

Tese apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto para obtenção do grau de Doutor em Ciências Farmacêuticas – Especialidade de Bioquímica

# **Síndrome metabólico e infecção pelo VIH, que relação?**

Mary Conception Fecha Duro

Trabalho realizado sob a orientação de

Prof. Doutora Irene Rebelo

Prof. Doutor Rui Medeiros

Prof. Doutor Rui Sarmento e Castro

Prof. Doutora Cristina V. Almeida

Janeiro de 2014

#### DECLARAÇÃO DO AUTOR

É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO PARCIAL DESTA TESE APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.

Créditos das imagens da capa: National Institutes of Health (NIH), EUA.

## Agradecimentos

A família e as pessoas que conheço são o meu maior património

As relações que cultivo são o meu maior feito

Aos que me incentivaram

Aos que me ajudaram

e

Aos que sofreram com as minhas ausências

O meu profundo agradecimento

*Mary*

---

Agradeço também:

À Fundação GlaxoSmithKlein, o apoio financeiro,

À Abbott Diagnostics e à Roche Diagnóstica, o fornecimento de alguns dos reagentes usados na investigação.

## Resumo

**Objetivos:** Avaliar a prevalência de síndrome metabólico (SM) em indivíduos infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (VIH) e a sua relação com a infecção e a terapia HAART (terapêutica antirretrovírica de alta eficácia).

**Métodos:** Analisou-se o perfil lipídico [triglicerídeos (TG), colesterol total (CT), colesterol-LDL e colesterol-HDL], a glicemia e a insulina em jejum, a homocisteína (HCY), a proteína C reativa de alta sensibilidade (PCRus), a interleucina 6 (IL-6), a capacidade antioxidante total (TAS) e os oligoelementos cobre (Cu), zinco (Zn), selênio (Se) e manganês (Mn), cofatores de importantes enzimas antioxidantes. Investigaram-se os fatores de risco dependentes e independentes para TG >150 mg/dL, glicose >110 mg/dL e HCY >14 µmol/L, e para o desenvolvimento de SM.

Num grupo de doentes sob terapêutica HAART avaliou-se a dislipidemia e disglucemia provocada pelo tratamento, por comparação com um grupo também infectado por VIH mas que nunca havia experimentado qualquer tipo de terapêutica antirretrovírica.

**Resultados:** Na amostra total analisada para SM (n=266) havia uma maior percentagem de homens ( $p = 0,038$ ). Entre os dois grupos (com e sem HAART) havia uma diferença significativa na idade ( $p < 0,001$ ), superior no grupo de tratamento. O índice de massa corporal (IMC) ( $p=0,015$ ) e a percentagem de lipodistrofia ( $p=0,000$ ) eram também superiores no grupo de tratamento. Todos os doentes tinham valores mais elevados de PCRus ( $p=0,000$ ) e mais baixos de TAS ( $p=0,000$ ) quando comparados com um grupo de controlo sem infeção. Os oligoelementos encontravam-se em níveis normais, e mesmo significativamente superiores ( $p < 0,05$ ) aos de um grupo controlo. Por comparação com os valores de referência comumente aceites, os níveis de HCY estavam aumentados (média: 15,6 µmol/L) e os valores médios de IL-6 eram normais em ambos os grupos.

A terapêutica HAART provocou um aumento médio de 18,2% nos TG, 7,8% no CT, 11,0% no colesterol-LDL, 4,7% no colesterol-HDL e 4,8% na glicose, sem significativo estatístico relativamente ao grupo *naïve* em qualquer dos casos.

Avaliados segundo os critérios do *Adult Treatment Panel* (ATP III), do *National Cholesterol Education Program* (NCEP), EUA, dos indivíduos da amostra total para os quais foi possível recolher informação suficiente (n=201), 46 (22,9%) foram classificados com tendo SM. Comparando os grupos sem e com SM, este último apresentava valores significativamente mais elevados de glicose ( $p < 0,001$ ), TG ( $p < 0,001$ ), insulina em jejum ( $p=0,002$ ) e índice HOMA (*homeostasis model assessment*) ( $p < 0,001$ ), e valores significativamente mais baixos de colesterol-HDL ( $p < 0,001$ ) e de Cu ( $p=0,030$ ).

Dos 155 indivíduos negativos para SM, 48 (31,0%) já cumpriam dois critérios de classificação, tendo por isso sido considerados um “grupo de risco” e feita a sua análise separadamente. Neste grupo estavam aumentados os valores de PCRus, HCY e linfócitos CD4+, e diminuídos os valores de TAS, sendo que para este parâmetro a diferença entre os grupos era significativa ( $p=0,024$ ).

Após análise multivariada, só um IMC elevado (OR: 0,186;  $p=0,0036$ ) e a HAART com inibidores não análogos de nucleosídeos da transcriptase reversa (INNRT) (OR: 4,036;  $p=0,019$ ) se revelaram fatores de risco independentes e significativos para glicose  $>110$  mg/dL nesta amostra de indivíduos infetados. Para TG  $> 150$  mg/dL tal só se verificou para um IMC  $\geq 25,0$  kg/mm<sup>2</sup> (OR: 2,417;  $p=0,011$ ).

Para o desenvolvimento de SM revelaram-se fatores de risco a idade (particularmente quando acima dos 50 anos;  $p=0,055$ ), e o índice HOMA ( $p=0,006$ ), mas após análise multivariada só um índice HOMA  $>3$  se mostrou um fator de risco significativo e independente (OR: 2,925;  $p=0,011$ ).

Relativamente à HCY, o único fator de risco independente e significativo para HCY  $>14$  encontrado foi a coinfeção com HCV/HBV (OR: 3,5;  $p=0,015$ ).

Os valores medianos de IL-6 foram significativamente mais elevados ( $p=0,038$ ) para contagens de linfócitos CD4  $<400$  células/mm<sup>3</sup> e, embora não significativamente, também os valores de PCRus. Encontraram-se ainda valores medianos de PCRus e IL-6 superiores nos indivíduos com valores baixos de colesterol-HDL.

**Conclusões:** A prevalência de SM encontrada na amostra de doentes com infeção por VIH estudada (22,9%) é concordante com os valores referidos na literatura, que variam entre 7,4% e 27%. Considerando também o “grupo de risco” (31,0% dos SM negativos), acreditamos que a curto prazo a prevalência será ainda maior.

Comprovaram-se os fatores de risco identificados pela maioria dos autores, idade e obesidade, com as típicas dislipidemia e disglucemia, transversais à população geral.

Na sua relação com a infeção, o único fator de risco independente significativo foi um índice HOMA  $>3$ , o que confirma a suspeita de Reaven quando designou esta condição de “síndrome X” e afirmou que o mecanismo fisiopatológico base seria a insulinoresistência. Encontramos ainda nestes infetados, como fatores de risco que levam ao SM, o tempo de infeção, a coinfeção por HCV/HBV, linfócitos CD4 elevados e utilização de HAART, fatores apontados também por vários outros autores.

No que se chamou “grupo de risco” e no grupo com SM foram encontrados os níveis mais elevados de PCRus e os níveis mais baixos de TAS. Estes resultados sustentam a tese de que a inflamação crónica e a baixa capacidade antioxidante do hospedeiro, perante o stresse gerado pela infeção e coinfeção, são o principal fator de risco para desenvolvimento de SM.

**Palavras-chave:** Infeção VIH; Inflamação; Síndrome metabólica; Terapêutica HAART.

## Abstract

**Objectives:** To evaluate the prevalence of metabolic syndrome (MS) in human immunodeficiency virus (HIV)-infected individuals and its relationship with infection and HAART (highly active antiretroviral therapy).

**Methods:** We determined the lipid profile [triglycerides (TG), total cholesterol (TC), LDL-cholesterol and HDL-cholesterol], fasting blood glucose and insulin, homocysteine (HCY), ultra-sensitive C-reactive protein (us-CRP), interleukin 6 (IL-6), total antioxidant status (TAS) and the trace elements copper (Cu), zinc (Zn), selenium (Se) and manganese (Mn), cofactors of important antioxidant enzymes. The dependent and independent risk factors for TG >150 mg/dL, glucose >110 mg/dL and HCY >14  $\mu$ mol/L, and for the development of MS we investigated.

In a group of patients under HAART, we evaluated the dysglycemia and dyslipidemia caused by the treatment, by comparing with individuals also infected with HIV but had never been under antiretroviral therapy.

**Results:** The total sample for MS (n=266) had a higher percentage of men (p=0.038). Between the two groups (with and without HAART) there was a significant difference in age (p <0.001), which was greater in the treatment group. The body mass index (BMI) (p=0.015) and percentage of lipodystrophy (p=0.000) were also greater in the treatment group. All patients had higher levels of us-CRP (p=0.000) and lower TAS (p=0.000) when compared with a control group without infection. Trace elements were at normal levels, and even significantly higher (p <0.05) than in the control group. When compared with commonly accepted reference values, HCY levels were increased (average: 15.6  $\mu$ mol/L) and average values of IL-6 were normal in both groups.

The HAART led to an average increase of 18.2% in TG, 7.8% in TC, 11.0% in LDL-cholesterol, 4.7% in HDL-cholesterol and 4.8% in glucose, not statistically significant *versus* the naive group in all cases.

Evaluated according to the criteria of the *Adult Treatment Panel* (ATP III), of the US *National Cholesterol Education Program* (NCEP), from the individuals of the total sample for which it was possible to collect enough information (n=201), 46 (22.9%) were classified as having MS. Comparing the groups with and without MS, the latter showed significantly higher glucose values (p <0.001), TG (p <0.001), fasting insulin (p=0.002) and HOMA (*homeostasis model assessment*) index (p <0.001), and significantly lower values of HDL-cholesterol (p <0.001) and Cu (p=0.030).

Of the 155 individuals classified as negative for MS, 48 (31.0%) already fulfilled two criteria and has therefore been considered a "risk group" and made their analysis separately. In this group us-CRP, HCY and CD4+ lymphocytes were increased, and TAS values decreased, the difference between groups for this parameter being significant ( $p=0.024$ ).

After multivariate analysis, only a high BMI (OR: 0.186,  $p=0.0036$ ) and HAART with non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs) (OR: 4.036,  $p=0.019$ ) proved to be independent and significant risk factors for glucose  $>110$  mg/dL. For TG  $>150$  mg/dL this was observed only for a BMI  $\geq 25.0$  kg/mm<sup>2</sup> (OR: 2.417,  $p=0.011$ ).

For the development of MS, the subject age (particularly when over 50 years,  $p=0.055$ ), and HOMA index ( $p=0.006$ ) proved to be risk factors, but after multivariate analysis only HOMA index  $>3$  proved to be a significant and independent risk factor (OR: 2.925,  $p=0.011$ ).

Regarding HCY, the single independent and significant risk factor for HCY  $>14$  was co-infection with HCV/HBV (OR: 3.5,  $p=0.015$ ).

The median IL-6 values were significantly higher ( $p=0.038$ ) for CD4  $<400$  cells/mm<sup>3</sup> and, although not significantly, also the us-CRP values. There were also median values of us-CRP and IL-6 higher in individuals with low levels of HDL-cholesterol.

**Conclusions:** The prevalence of MS found in the sample of HIV-infected patients studied (22.9%) is consistent with the values reported in the literature, ranging between 7.4% and 27%. Considering also the "risk group" (31.0% of the MS-negative patients), a gradual increase in the prevalence should be observed in short-term.

The risk factors identified by most authors, age and obesity, with the typical dyslipidemia and dysglycemia, common to the general population, were evidenced.

In its relationship with the infection, the only significant and independent risk factor was an HOMA index  $>3$ , which confirms the Reaven suspicion when called MS as "syndrome X" and said that the underlying pathophysiological mechanism would be insulin resistance. In these HIV-infected patients we also found, as risk factors leading to SM, infection duration, co-infection with HCV/HBV, high CD4 T cell counts, and the use of HAART, all factors already identified by several other authors.

The highest levels of us-CRP and lowest levels of TAS were found in the "risk group" and the MS group. These results support the theory that chronic inflammation and low antioxidant capacity of the host, facing the stress generated by HIV-infection and co-infections, is the main risk factor for the development of MS.

**Keywords:** HIV-infection; Inflammation; Metabolic syndrome; HAART

## Índice

Agradecimentos .....	iii
Resumo.....	iv
Abstract.....	vi
Índice .....	viii
Índice de figuras.....	x
Índice de tabelas .....	xi
Lista de abreviaturas e símbolos .....	xiii
Introdução e objetivos .....	1
Capítulo 1. ....	7
VIH/SIDA, evolução natural e avanço científico: um desafio de forças .....	7
Capítulo 2. ....	15
Organização estrutural e genómica, replicação do VIH e resposta do hospedeiro .....	15
Capítulo 3. ....	29
Terapêutica antirretrovírica.....	29
Capítulo 4. ....	33
Dislipidemia e lipodistrofia associadas à infeção por VIH e à terapia HAART.....	33
4.1 Disglicemia associada à infeção por VIH e à terapia HAART.....	33
4.2 Disglicemia associada à infeção por VIH e à terapia HAART.....	38
Capítulo 5. ....	41
Inflamação e stresse oxidativo .....	41
Capítulo 6. ....	46
Síndrome metabólico associado à infeção por VIH e à terapia HAART.....	46
6.1 Síndrome metabólico, nutrição e oligoelementos.....	50
6.2 Síndrome metabólico, aterogénese e hiperhomocisteinemia .....	54
Capítulo 7. ....	59
Métodos .....	59



Capítulo 8. ....	63
Resultados e discussão .....	63
8.1 Perfil lipídico .....	63
8.1.1 Resultados .....	63
8.1.2 Discussão.....	65
8.2 Perfil glicémico.....	67
8.2.1 Resultados .....	67
8.2.2 Discussão.....	69
8.3 Stresse oxidativo e inflamação .....	71
8.3.1 Resultados .....	71
8.3.2 Discussão.....	74
8.4 Síndrome metabólico .....	79
8.4.1 Resultados .....	79
8.4.2 Discussão.....	98
8.5 Homocisteína.....	104
8.5.1 Resultados .....	104
8.5.2 Discussão.....	109
Conclusões gerais .....	112
Referências bibliográficas.....	122
Anexos .....	145

## Índice de figuras

Figura 1. Evolução filogenética do VIH-1 e do VIH-2.....	13
Figura 2. Estrutura do VIH.....	16
Figura 3. Diagrama da organização genómica do VIH-1 .....	17
Figura 4. Ciclo de replicação e alvos terapêuticos.....	21
Figura 5. Evolução natural da infeção sem terapia antirretrovírica (ARV) .....	24
Figura 6. Relação entre o número de células CD4 e a probabilidade de aparecimento de infeções oportunistas .....	25
Figura 7. Mecanismos da resposta imunitária contra o VIH.....	27
Figura 8. Relação de IL-6 e PCRus com os valores de CD4 .....	73
Figura 9. Curva ROC para a análise multivariada de fatores de risco para glicose elevada segundo o modelo de regressão logística multivariada de fatores independentemente associados a glicose >110 mg/dL .....	92
Figura 10. Curva ROC para análise multivariada de fatores de risco para triglicerídeos altos, segundo o modelo de regressão logística multivariada de fatores independentemente associados a TG >150 mg/dL .....	95
Figura 11. Curva ROC para análise logística univariada de factores independentemente associados ao SM.....	98
Figura 12. Diferença entre grupos de SM para CV e para contagem de linfócitos CD4+102	
Figura 13. Diferenças no estado inflamatório (IL-6 e PCRus) em função dos níveis médios de HDL.....	103
Figura 14. Relação entre os níveis medianos de a) HDL-colesterol e PCRus e b) HDL-colesterol e IL-6.....	103
Figura 15. Diferença no estado inflamatório (IL-6 e PCRus) e TAS entre grupos de SM	104
Figura 16. Curva ROC para análise logística multivariada de fatores independentemente associados a HCY >14 µmol/L para todos os pacientes.....	107

## Índice de tabelas

Tabela 1. Valores de <i>cut-off</i> do perímetro abdominal atualmente recomendados para a definição de obesidade abdominal. (Adaptado de Alberti <i>et al.</i> [17]) .....	3
Tabela 2. Classificação atual dos estádios da infecção VIH, segundo a revisão dos CDC (1993).....	10
Tabela 3. Infecções oportunistas e outras condições associadas à infecção por VIH que constituem os atuais critérios de definição da SIDA, segundo os CDC (1993) .....	10
Tabela 4. Doenças da Categoria B dos estádios da infecção por VIH, segundo os CDC (1993).....	11
Tabela 5. Caracterização da população estudada (INRT+INNRT, INRT+IP e HAART-naïve) .....	64
Tabela 6. Comparação do perfil lipídico pré e pós-terapia.....	65
Tabela 7. Perfil glicémico e índice de HOMA (IH) antes e após o <i>follow-up</i> .....	68
Tabela 8. Modelo EEG – Influência das variáveis nos valores de glicose.....	68
Tabela 9. Avaliação dos marcadores de inflamação e do <i>status</i> antioxidante total.....	72
Tabela 10. Relação dos marcadores IL-6 e PCRus com os linfócitos CD4.....	73
Tabela 11. Relação dos marcadores IL-6 e PCRus com os valores de HDL .....	74
Tabela 12. Caracterização da amostra total para avaliação de SM.....	80
Tabela 13. Idade dos participantes da amostra total para avaliação do SM .....	80
Tabela 14. Caracterização da amostra total para avaliação de SM quanto às terapias não HARRT.....	81
Tabela 15. Caracterização da amostra total para avaliação de SM quanto ao estágio da infecção .....	81
Tabela 16. Perfil lipídico e glicémico da amostra total para avaliação de SM .....	82
Tabela 17. Caracterização da inflamação e risco cardiovascular da amostra total para estudo de SM .....	83
Tabela 18. Oligoelementos e <i>status</i> antioxidante total (TAS) da amostra em estudo para SM .....	83
Tabela 19. Classificação de síndrome metabólica na amostra total .....	84
Tabela 20. Caracterização dos doentes com síndrome metabólica.....	85
Tabela 21. Diferenças significativas na população infetada por VIH, sem SM e com SM .....	86
Tabela 22. Diferenças na população infetada por VIH, sem SM e com SM.....	87
Tabela 23. Comparação da população infetada sem SM e com SM relativamente aos marcadores de inflamação e ao TAS .....	88

Tabela 24. Comparação dos diferentes grupos de SM quanto aos marcadores de inflamação, capacidade antioxidante e estágio da infecção .....	89
Tabela 25. Análise logística univariada de fatores associados a glicose >110 mg/dL .....	91
Tabela 26. Modelo Variar 1* – Análise logística multivariada de fatores independentemente associados a glicose >110 mg/dL para todos os pacientes .....	92
Tabela 27. Análise logística univariada de fatores associados a TG >150 mg/dL.....	94
Tabela 28. Modelo Variar 1* – Análise logística multivariada de fatores independentemente associados a TG >150 mg/dL para todos os pacientes .....	95
Tabela 29. Modelo de regressão logística multivariável* para factores associados a SM	96
Tabela 30. Análise univariada para risco de SM.....	97
Tabela 31. Análise univariada para risco de SM conforme número de critérios.....	98
Tabela 32. Níveis de homocisteína nos indivíduos infetados segundo a classificação de SM .....	105
Tabela 33. Análise logística univariada de fatores associados a HCY >14 µmol/L para todos os doentes.....	106
Tabela 34. Análise logística multivariada de fatores independentemente associados a HCY >14 µmol/L para todos os pacientes. ....	106
Tabela 35. Relação dos valores de TAS com HCY ≤14 e >14 µmol/L .....	108
Tabela 36. Análise logística univariada de fatores associados a HCY >14 µmol/L para pacientes com SM.....	108

## Lista de abreviaturas e símbolos

3TC – Lamivudina

AACTG – *Adult AIDS Clinical Trials Group*

ABC – Abacavir

ACTG – *AIDS Clinical Trials Groups*

ADN – Ácido desoxirribonucleico

AGL – Ácidos gordos livres

AHA – *American Heart Association*

AIQ – Amplitude inter-quartil

Apo – Apolipoproteína

APOBEC – Enzima catalítica da edição de ARN mensageiro para apolipoproteína B, do inglês *apolipoprotein B mRNA-editing enzyme-catalytic*

ARC – *AIDS related complex*

ARN – Ácido ribonucleico

ARNm – Ácido ribonucleico mensageiro

ARV – Antirretrovírica

ATP – Adenosina trifosfato

ATP III – *Adult Treatment Panel III*

ATV – Atazanavir

AVC – Acidente vascular cerebral

AZT – Azidotimidina (ou zidovudina)

CA – Proteína da cápside

CAT – Catalase

CDC – *Centers for Disease Control and Prevention*

CDm – Células dendríticas mieloides

CDp – Células dendríticas plasmocitoides

CMV – Citomegalovírus

CRABP-1 – Proteína citoplasmática ligante de ácido retinóico tipo 1, do inglês *cellular retinoic acid binding protein 1*

CROI – *Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections*

CRS – Complexo Relacionado com a SIDA

CT – Colesterol total

Cu – Cobre

CV – Carga vírica

CyPA – Ciclofilina A

D:A:D – *Data Collection on Adverse Events of Anti-HIV Drugs*

d4T – Estavudina

DDC – Zalcitabina (2',3'-didesoxicitidina)

DDI – Didanosina (2',3'-didesoxi-inosina)

DM – Diabetes mellitus

EEG – Equações de estimação generalizadas

EFV – Efavirenz

ENOS – sintase do óxido nítrico endotelial, do inglês *endothelial nitric oxide synthase*

Env – Glicoproteína do invólucro ou glicoproteína env

ERO – Espécies reativas de oxigénio

EUA – Estados Unidos da América

EVG – Elvitegravir

FDA – *Food and Drug Administration*

FPV – Fosamprenavir

FRCs – Formas recombinantes circulantes

FTC - Entricitabina

FTC - Entricitabina

Gag – *Group-specific antigen (capsid, matrix and nucleic acid binding proteins)*

gp 120 (SU) – Glicoproteína de superfície

gp 41 (TM) – Glicoproteína transmembranar

GPx – Glutathione peroxidase

GRID – *Gay-related immunodeficiency disease*

HA – Hipertensão arterial

HAART – Terapia tripla de alta atividade, do inglês *highly active antiretroviral therapy*

HCY – Homocisteína

HD1N – *Helicoidal domain-1*

HDL – Lipoproteína de alta densidade, do inglês *high density lipoproteins*

HepG2 – Linha celular do hepatoma humano

HHCY – Hiperhomocisteinemia

HLA – Sistema antigénio leucocitário humano, do inglês *human leukocyte antigen*

HOMA – Modelo de Avaliação da Homeostasia, do inglês *homeostatic model assessment*

HSV – Vírus herpes simplex

IC – Intervalo de confiança

ICAM-1 – Molécula de adesão intercelular-1, do inglês *intercellular adhesion molecule-1*

IDF – *International Diabetes Federation*

IDL – Lipoproteína de densidade intermédia, do inglês *intermediate density lipoproteins*

IDV – Indinavir  
 IF – Inibidores da fusão  
 IFN- $\alpha$  – Interferão alfa  
 IFN- $\gamma$  – Interferão gama  
 Ig – Imunoglobulinas  
 IH – Índice HOMA  
 IL – Interleucina  
 IMC – Índice de massa corporal  
 IN – Integrase  
 INNRT – Inibidores não nucleosídeos da transcriptase reversa  
 INRT – Inibidores nucleosídeos da transcriptase reversa  
 IP – Inibidores da protéase  
 IRS – substrato do recetor-1 da insulina, do inglês *insulin receptor substrate*  
 JIS – *Joint Interim Statement*  
 KS – Sarcoma de Kaposi  
 LDL – Lipoproteína de baixa densidade, do inglês *low density lipoproteins*  
 LDL-ox – LDL oxidado  
 LGP – Linfadenopatia generalizada persistente  
 LH – Lípase hepática  
 Lp (a) – Lipoproteína (a)  
 LPL – Lipoproteína lípase  
 LPV – Lopinavir  
 LRP – Proteína relacionada com o recetor das LDL, do inglês *LDL receptor-related protein*  
 LTR – *Long terminal repeat*  
 MA – Proteína da matriz  
 MAC – Complexo *Mycobacterium avium*  
 MCP-1 – Proteína quimiotática de monócitos, do inglês *monocyte chemoattractant protein*  
 MHC – Complexo major de histocompatibilidade  
 Mn – Manganês  
 NC – Proteínas da nucleocápside  
 NCEP – *National Cholesterol Education Program*  
 NF- $\kappa$ B – Fator de transcrição nuclear  $\kappa$ B, do inglês *nuclear factor-kappa B*  
 NFV – Nelfinavir  
 NHL – Linfoma não Hodgkin  
 NHLBI – *National Heart Lung and Blood Institute*

NIH – *National Institutes of Health*

NK – *Natural Killer* ou células assassinas naturais

NSI – Não indutoras de sincícios

NVP – Nevirapina

OMS – Organização Mundial de Saúde

ONU – Organização das Nações Unidas

OR – *Odds ratio*

PAI-1 – Inibidor do ativador do plasminogénio 1, do inglês *plasminogen activator inhibitor-1*

PCP – Pneumonia primária por *Pneumocystis carinii* (hoje *Pneumocystis jiroveci*)

PCR – Proteína C reativa

PCRus – Proteína C reativa ultrasensível

PEPCK – Carboxiquinase fosfoenolpiruvato, do inglês *phosphoenolpyruvate carboxykinase*

PIC – Complexo de pré-integração

PML – Leucoencefalopatia multifocal progressiva, do inglês *progressive multifocal leukoencephalopathy*

Pol – Polimerase, protéase e integrase

PPAR- $\gamma$  – Recetor ativado por proliferadores de peroxissomas gama, do inglês *peroxisome proliferator-activated receptor-gamma*

PR – Protéase

Qm – Quilomícron

RAL – Raltegravir

RI – Resistência à insulina

ROC – *Receiver operating characteristic*

RT – Retrotranscriptase

RTV – Ritonavir

RXR – Recetor retinoide X

Se – Selénio

SI – Sistema imunitário

SIDA – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

SM – Síndrome metabólico

SNC – Sistema nervoso central

SPSS – *Statistical Package for the Social Sciences*

SQR/r – Saquinavir (potenciado pelo ritonavir)



SREBP – Proteína de ligação a elemento regulador de esterol, do inglês *sterol-regulatory element binding proteins*

SVA – Síndrome vírico agudo

TAF – Tenofovir alafenamida

TAR – Terapia antirretrovírica

TAS – Capacidade antioxidante total, do inglês *total antioxidant status*

TDF – Tenofovir disoproxil fumarato

TG – Triglicerídeos

TNF – Fator de necrose tumoral, do inglês *tumor necrosis factor*

VCAM-1 – Molécula de adesão celular vascular-1, do inglês *vascular cell adhesion molecule 1*

VIH – Vírus da imunodeficiência humana

VIS – Vírus da imunodeficiência dos símios

VLDL – Lipoproteína de muito baixa densidade, do inglês *very low density lipoprotein*

WS – *Wasting syndrome*

Zn – Zinco

## Introdução e objetivos

“Síndrome metabólico” (SM) é um termo que evoluiu desde as primeiras décadas do século XX, quando várias condições se observaram em simultâneo no mesmo doente e pareciam influenciar-se mutuamente. A primeira descrição, feita por Reaven em 1988, dava conta da associação de hiperglicemia, hipertensão arterial (HA) e uma dislipidemia caracterizada por baixos níveis de colesterol-HDL (HDL) e altos níveis plasmáticos de colesterol-VLDL (VLDL), que ele designou por “Síndrome X” [1]. Reaven sugeriu que esses fatores, que ocorriam de forma simultânea ou sequencial, tinham a resistência à insulina (RI) como mecanismo fisiopatológico base [1-5].

Esta associação de entidades clínicas teve várias designações como “Síndrome Plurimetabólico” [6] ou “Síndrome da Resistência à Insulina” [4,7]. Muito tempo passou sem que houvesse uma definição precisa, sendo acrescentadas ao longo dos anos novas componentes para a definição, mas apenas em 2001 Lemieux e colegas [8] incluíram a obesidade visceral nas entidades principais.

Sabe-se hoje que, apesar de fortemente condicionado por fatores ambientais, o seu desencadeamento é determinado geneticamente, pelo que atingirá maioritariamente indivíduos ou etnias com maior predisposição endógena [9-11]. Afeta já mais de 25% da população com idade superior a 20 anos do mundo dito desenvolvido, e predispõe ou agrava as doenças cardiovasculares [12].

O primeiro esforço de uniformização de critérios foi feito pela OMS (*Organização Mundial de Saúde*) em 1998 [13], e que mais tarde incluiu também a obesidade visceral como fator de risco, definindo os valores para a dislipidemia, HA e hiperglicemia em jejum que levam à classificação de SM.

Atualmente, os critérios aceites provêm de um consenso de várias entidades que divergiam quanto à importância dos diferentes fatores de risco ou consideravam que se deveriam particularizar as características étnicas, nomeadamente no que se refere ao perímetro abdominal. Para o consenso foram consideradas as propostas do *National Cholesterol Education Program/Adult Treatment Panel III* (NCEP/ATP III) [14], da OMS, da *American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute* (AHA/NHLBI), da *International Diabetes Federation* (IDF) [15] e, por último, a proposta de associações médicas internacionais, que numa declaração provisória conjunta (um *Joint Interim Statement* – JIS) sugerem pontos de corte (*cut-off*) para obesidade e perímetro abdominal ajustados a distintos grupos étnicos [16,17].

Com base nos critérios da NCEP/ATP III e da OMS, o diagnóstico deste síndrome é estabelecido quando o indivíduo apresenta três ou mais dos seguintes componentes: 1) intolerância à glicose com glicemia em jejum  $\geq 110$  mg/dL; 2) obesidade abdominal, ou maior quantidade de gordura visceral, com perímetro da cintura superior a 102 cm para indivíduos do sexo masculino e a 88 cm para indivíduos do sexo feminino; 3) concentração de triglicerídeos (TG)  $\geq 150$  mg/dL; 4) concentração de colesterol-HDL (HDL)  $< 40$  mg/dL para indivíduos do sexo masculino e  $< 50$  mg/dL para indivíduos do sexo feminino; 5) terapia anti-hipertensiva vigente ou pressão arterial  $\geq 130 \times 85$  mmHg [14]. Já a IDF recomenda como critério fixo a obesidade abdominal com perímetro abdominal maior que 94 cm para homem e 80 cm para mulher e define intolerância à glicose para valores superiores a 100 mg/dL em jejum [15].

Segundo a declaração conjunta (JIS), os valores de *cut-off* são os descritos na Tabela 1.

Até então, as prevalências encontradas, para a mesma população, eram discordantes, com valores subestimados para algumas etnias (Asiáticos), principalmente quando o perímetro abdominal era critério fixo [4,7].

Recentemente, outros fatores, não de definição mas de risco para o desenvolvimento deste síndrome, foram reconhecidos. São exemplo o aumento do inibidor do ativador do plasminogênio-1 (PAI-1) e da proteína C-reativa ultrasensível (PCRus) [18,19].

A inflamação e o stresse oxidativo estão associados a vários processos, incluindo o envelhecimento e diversas doenças crônicas, como o cancro, doenças cardiovasculares e doenças neurodegenerativas. A latência do vírus da imunodeficiência humana (VIH) nos órgãos linfoides, nos órgãos e/ou tecidos de difícil acesso e em células de grande longevidade permite uma constante replicação e uma inflamação crônica. Esta última, como se tem confirmando, é o denominador comum da degenerescência celular, da apoptose, da RI e do início da aterogênese, alimentando, ainda, a máquina replicativa do vírus [20,21].

Tabela 1. Valores de *cut-off* do perímetro abdominal atualmente recomendados para a definição de obesidade abdominal. (Adaptado de Alberti *et al.* [16])

População	Organização	<b>Cut-off do perímetro abdominal (cm) recomendado para a obesidade abdominal</b>	
		<b>Homens</b>	<b>Mulheres</b>
Europeia	IDF	≥94 cm	≥80 cm
Caucasiana	OMS	≥94 (risco aumentado) ≥102 (risco ainda mais elevado)	≥80 (risco aumentado) ≥88 (risco ainda mais elevado)
Americana	AHA/NHLBI (ATP III)*	≥102	≥88
Canadiana	<i>Health Canada</i>	≥102	≥88
Europeia	<i>European Cardiovascular Societies</i>	≥102	≥88
Asiática (incluindo Japonesa)	IDF	≥90	≥80
Asiática	OMS	≥90	≥80
Japonesa	<i>Japanese Obesity Society</i>	≥85	≥90
Chinesa	<i>Cooperative Task Force</i>	≥85	≥80
Mediterrânea e do Médio Oriente	IDF	≥94	≥80
África subsariana	IDF	≥94	≥80
Centro e sul-americana	IDF	≥90	≥80

\*As *guidelines* recentes da AHA/NHLBI para o síndrome metabólico reconhecem um risco aumentado para doenças cardiovasculares e diabetes a partir do perímetro abdominal ≥94 cm nos homens e ≥80 cm nas mulheres e identificam esses pontos de corte como opcionais para indivíduos ou populações com elevada resistência à insulina.

A ligação do SM com a infeção pelo VIH começa, a nosso ver, na própria infeção. A intensa reação imunológica que se desenvolve após a infeção é mediada por fatores solúveis, tais como interferões e citocinas pró-inflamatórias [22], sendo que as proteínas de fase aguda e citocinas, incluindo o interferão- $\alpha$  [23,24], interferem com o metabolismo lipídico, podendo levar ao desencadeamento de dislipidemia ou ao agravamento de condições pré-existentes [25]. De referir ainda que as citocinas pró-inflamatórias e proteínas de fase aguda, como a proteína C reativa (PCR), produzida no fígado, adipócitos e tecido endotelial vascular após um estímulo como lesão tecidual, inflamação e/ou infeção, estará envolvida no desenvolvimento da RI e, assim, indiretamente, no SM [26,27].

Corroborando esta suspeita, vários tipos de alterações lipídicas foram descritas no decurso de infeções, tanto agudas como crónicas, de diversas etiologias (bacterianas, parasitárias e víricas) [28]. A infeção por VIH não fugiu a este cenário, quando nas primeiras décadas da infeção pelo VIH, ainda sem terapia, se verificaram alterações do perfil lipídico. Nesta fase, o padrão típico era o aumento dos níveis de TG com redução dos níveis de colesterol total (CT), HDL e LDL (lipoproteínas de baixa densidade) [29-31].

A infeção pelo VIH provoca alterações diretas na atividade da lipoproteína lípase (LPL) e da lípase hepática (LH), reduzindo as suas atividades [32-34]. A reduzida atividade da LPL diminui a depuração das lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) e de densidade intermédia (IDL), bem como das quilomícrons (Qm) na fase pós-prandial, provocando um acentuado aumento dos TG e um aumento ligeiro do CT plasmático [31,35,36].

O aparecimento dos antirretrovíricos, especialmente quando o esquema de associação tripla se tornou padrão dos esquemas terapêuticos, não resolveu este problema, antes pelo contrário. Às alterações metabólicas juntaram-se também alterações morfológicas (lipodistrofia). No que respeita à dislipidemia, manteve-se mas com um novo perfil, onde os valores notavelmente aumentados de TG e baixos de HDL se associavam também a aumentos de concentração de CT e LDL [37,38]. Nesta época, a responsabilidade destes efeitos recaía sobre os fármacos, [35,39,40] particularmente os inibidores da protéase (IP), dado que esta mudança surgiu com o seu uso generalizado [41-44].

Algumas proteínas humanas intervenientes no metabolismo lipídico, por apresentarem uma homologia com a protéase vírica, seriam parcialmente inibidas com a administração desses fármacos, o que explicava, em parte, a dislipidemia [35,41,45-48]. A incidência média de dislipidemia, descrita para a terapia tripla de alta atividade (HAART), principalmente nos primeiros anos após a sua introdução, varia entre 15% e 30%. Considerando especificamente a classe dos IP, a incidência da dislipidemia pode atingir os 60%, variando os aumentos da concentração dos TG entre 40 e 80% e os aumentos da concentração do CT entre 10 e 50% [45]. A hipertrigliceridemia é o efeito metabólico mais comum, podendo os valores de TG aumentar cerca de 200% em relação aos níveis basais [49,50]. As alterações do metabolismo da glicose, com aumento das suas concentrações, embora com menos ênfase, também vão sendo relatados [51-53].

Apesar da eficácia dos fármacos disponíveis, o vírus permanece sempre no hospedeiro, provocando um contínuo processo de inflamação, que induz RI, e esta, por sua vez, acentua o processo inflamatório [19,22]. Por outro lado, a replicação, mesmo que latente, induzirá um stresse oxidativo mitocondrial adicional e alterações nutricionais, principalmente ao nível de micronutrientes, nomeadamente cobre (Cu), selénio (Se), zinco (Zn) e manganês (Mn), cofatores de importantes enzimas antioxidantes [54-59]. Assim sendo, a infeção por VIH, tal como muitas outras, provocará, *per si*, na sua relação com o hospedeiro, alterações no metabolismo dos lípidos e da glicose.

Pelos motivos diretamente relacionados com a replicação vírica, bem como com o aumento do tempo de vida destes doentes, que os expõem às típicas “doenças da meia-idade” associadas aos efeitos secundários da terapêutica, o SM encontra no indivíduo infectado pelo VIH o terreno ideal à sua precipitação.

Devido ao impacto negativo que estas alterações podem ter no prognóstico dos pacientes, aumentando o espectro de morbilidades, particularmente ao nível da patologia cardiovascular, a comunidade médica foi desafiada a analisar em que medida a infeção por VIH aumentava o risco de doença cardiovascular, e se esta era um inevitável efeito colateral da HAART a longo prazo. Na realidade, desde que o assunto começou a ser objeto de investigação sistemática, vários estudos têm relatado que nos infetados por VIH, além dos fatores tradicionais (idade avançada, obesidade, dislipidemia e história familiar) [60], é necessário incluir também a imunodeficiência, a lipodistrofia e a HAART [51,61,62] nos fatores de risco para doença cardiovascular.

Neste contexto, o objetivo deste estudo foi a investigação dos pontos de correlação entre o SM e a infeção por VIH, considerando a infeção, a inflamação e a condição metabólica e nutricional dos pacientes, bem como o efeito da própria HAART.

A nossa convicção baseia-se na perpetuação da infeção como doença crónica, na latência vírica e no contínuo estímulo do sistema imunitário (SI) no hospedeiro.

O balanço entre a carga vírica (CV), a eficácia da terapêutica (HAART), com os seus inevitáveis efeitos secundários, e a capacidade do hospedeiro – tendo em conta a resposta imunitária, as coinfeções e outras condicionantes que determinam o bem-estar geral do indivíduo, como o aporte nutricional ao nível vitamínico e de oligoelementos (cofatores das enzimas antioxidantes [23,63-65]), associadas ao estilo de vida – ditará os sinuosos caminhos que levam ao síndrome metabólico.

As perguntas colocadas foram as seguintes:

1. Há maior dislipidemia, insulinoresistência e disglucemia nos indivíduos infectados submetidos a tratamento?
2. Os fatores de risco e a prevalência de SM nos indivíduos infectados são diferentes da população não infectada?
3. Em caso afirmativo, qual a sua relação com o estado de infecção, inflamação, coinfeção e capacidade antioxidante do hospedeiro?
4. E a terapia HAART? Provada a sua responsabilidade na dislipidemia e na toxicidade mitocondrial direta, contribui por estes dois mecanismos para o SM nos indivíduos infectados?

## Capítulo 1.

### **VIH/SIDA, evolução natural e avanço científico: um desafio de forças**

A SIDA foi, indubitavelmente, a doença do século XX. Ao contrário das grandes epidemias, como a gripe espanhola, a peste negra e até a tuberculose, surgiu após grandes avanços na Medicina, que dispunha já de um alargado leque de meios auxiliares de diagnóstico, condições higieno-sanitárias, fármacos e outras formas de tratamento. Assim, num contexto de paz e grandes recursos económicos, foi divulgada oficialmente nos Estados Unidos da América (EUA) a 5 de junho de 1981, quando os *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) publicaram um artigo onde se descreviam cinco casos de pneumonia por *Pneumocystis carinii* (hoje classificado como *Pneumocystis jiroveci*), em Los Angeles [66,67].

Tal fez instalar o pânico na população em geral, pela severidade e desconhecimento da doença, e agitou o mundo científico para uma intensa investigação, em clima de grande competição. Esta nova condição clínica fez renascer “velhas doenças” e emergir “novas”, em surpreendentes contextos clínicos que sugeriam, apenas, uma súbita e abrupta queda na normal condição imunológica. Todos os casos descritos se referiam a indivíduos do sexo masculino jovens (29-33 anos), previamente saudáveis (sem história clínica sustentada de imunodeficiência), que, além disso, não se conheciam nem tinham, aparentemente, nada em comum, a não ser um idêntico estilo de vida, nomeadamente serem homossexuais [66,67].

Desde então, muitos casos clínicos semelhantes se sucederam, aos quais se iam somando e misturando outras doenças crónicas e neoplasias, como a linfadenopatia generalizada persistente (LGP) [68], o sarcoma de Kaposi (KS) [69] e o linfoma não-Hodgkin (NHL) [70].

As análises realizadas a todos estes doentes revelavam uma baixa acentuada no número de linfócitos T CD4+ [71], confirmando o comprometimento da imunidade celular que resulta numa suscetibilidade aumentada a outras infeções e ao aparecimento de neoplasias [71]. A nova doença associava infeções oportunistas de diferentes etiologias e tumores malignos, o que se enquadrava num contexto de profunda depressão imunológica, tal como se suspeitou desde o início [72].



Porque se identificou pela primeira vez na população homossexual, o termo *Gay Related Immunodeficiency Disease* (GRID) ou *Gay Compromise Syndrome* foi originalmente proposto [69,73]. A imprensa designou-a de “*Gay Plage*” e “*Gay Cancer*” até ao momento em que em imigrantes haitianos nos EUA [74], hemofílicos [75], recetores de transfusões sanguíneas [76], e na população de heterossexuais [49,77,78] se encontraram também casos desta imunodeficiência.

Em setembro de 1982 esta nova entidade clínica foi oficialmente designada de SIDA – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida [79]. Definiram-se também as condições clínicas necessárias para ser caracterizada como tal, os quais incluíam a presença de doença indicativa de depleção da imunidade mediada por células, sem que outra causa ou condição subjacente, como por exemplo o KS, a pneumonia por *Pneumocystis carinii* ou outra importante infeção oportunista propiciasse a instalação da doença [80-82].

Enquanto se concentravam as atenções nos chamados “grupos de risco”, a epidemia espalhava-se, silenciosa e transversalmente, por todas as áreas geográficas e por todos os grupos sociais da população, particularmente entre os heterossexuais, onde muitos recém-nascidos, filhos de mães portadoras, eram também portadores da infeção [83-85].

Em 1994, a SIDA foi a principal causa de morte masculina nos EUA na faixa etária compreendida entre os 25 e os 44 anos [86], mas a verdadeira causa da doença permaneceu desconhecida até 1983 quando, simultaneamente, Luc Montagnier, em França, e Robert Gallo, nos EUA, isolaram, de pacientes com SIDA, um retrovírus Tlinfotrófico [87,88].

A frequência deste síndrome nos doentes hemofílicos que não tinham em comum, além dos concentrados de fator VIII, outro tipo de medicação, bem como ocupação, hábitos ou antecedentes familiares de doença imunológica relevante, chamou a atenção para a possibilidade de transmissão da infeção através do sangue e seus derivados, além dos outros fluidos biológicos que sugeriam as notificações anteriores [81,89].

A partir daí foram adotadas medidas acrescidas de vigilância sobre as dádivas de sangue, assim como reforçadas as normas de precaução nos trabalhadores da área da saúde, particularmente em clínicas e laboratórios onde se manipulam produtos biológicos humanos. Em março de 1983, os CDC publicam as regras básicas de prevenção [89] e, no mesmo ano, a *Food and Drug Administration* (FDA) excluiu os chamados “grupos de alto risco” do universo dos dadores de sangue [82].

Os anos entre 1983 e 1986 foram muito intensos na história da SIDA: foram anunciados os primeiros cinco casos em indivíduos da África Central (março de 1983); foram detectados os primeiros casos de possível infecção ocupacional (julho de 1983); foram publicadas as primeiras normas de acompanhamento de doentes infetados (setembro de 1983); a SIDA foi declarada como doença de notificação obrigatória nos EUA (janeiro de 1984); a FDA aprovou o primeiro teste comercial de deteção do VIH (março de 1985), na sequência da identificação do vírus, e em 1986 os CDC estabeleceram os primeiros critérios para diagnóstico de SIDA [85,90].

Em 1983 ocorreu uma revisão de critérios e a doença passou a designar-se como “infecção por VIH”, sendo o termo SIDA reservado à fase final da infecção, aquando do aparecimento de infeções e/ou tumores oportunistas e certos transtornos neurológicos, indicativos de défice de imunidade celular, sem outras causas que não a infecção pelo VIH. Assim, a SIDA corresponde ao desaparecimento da resposta imunitária, com uma marcada depleção dos linfócitos T CD4 + (CD4) e um aumento da CV, consequências de uma intensa atividade replicativa do vírus e também da destruição da arquitetura funcional dos gânglios linfáticos do hospedeiro [91].

Na classificação atual (resultante da revisão de 1993) os estadios da infecção por VIH são divididos em três grupos, A, B e C (Tabela 2), que conjugam diferentes situações clínicas com a contagem de CD4. A categoria A, subdividida em A1, A2 e A3 conforme o número de CD4, engloba o Síndrome Vírico Agudo (SVA), a LGP e a infecção crónica assintomática; na categoria C estão as condições (infeções e tumores oportunistas) definidoras da SIDA (Tabela 3), também repartidas conforme a contagem de CD4. A categoria B abarca todas as outras situações não A ou não C mas que são manifestações do VIH ou condições que são agravadas pela infecção (Tabela 4) [91].

Tabela 2. Classificação atual dos estádios da infecção VIH, segundo a revisão dos CDC (1993)

Estádios da infecção por VIH	Contagem de linfócitos T CD4+		
	≥500/μL	200-499/μL	≤199/μL
A – Assintomático	A1	A2	A3
B – Sintomático não A ou não C	B2	B2	B3
C – Condições definidoras de SIDA	C1	C2	C3

Tabela 3. Infecções oportunistas e outras condições associadas à infecção por VIH que constituem os atuais critérios de definição da SIDA, segundo os CDC (1993)

Infecção	Doença
Infecções por protozoários	Toxoplasmose
	Criptosporidiose com diarreia ultrapassando 1 mês
	Isosporíase com diarreia de duração igual ou superior a 1 mês
Infecções por fungos	Candidose esofágica, traqueal, brônquica ou pulmonar
	Pneumonia por <i>Pneumocystis jiroveci</i>
	Criptococose extrapulmonar
	Coccidioidomicose extrapulmonar
	Histoplasmose extrapulmonar
Infecções víricas	CMV com exclusão da doença hepática, esplênica ou ganglionar
	Herpes simplex mucocutâneo, com ulcerações mais de 1 mês, ou bronquite, pneumonite ou esofagite
	Leucoencefalopatia multifocal progressiva
Infecções bacterianas	Infeção por <i>Mycobacterium avium</i> disseminada
	Infeção por <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
	Pneumonia bacteriana recorrente (mais do que dois episódios em 12 meses)
	Septicemia por Salmonela (não tífica), recorrente
Neoplasias oportunistas	Sarcoma de Kaposi
	Linfoma de Burkitt, imunoblástico, primário, do SNC
	Carcinoma invasivo do colo do útero
Outras condições	Encefalite por VIH (demência)
	Síndrome de emaciação

Tabela 4. Doenças da Categoria B dos estádios da infecção por VIH, segundo os CDC (1993)

---

Angiomatose bacilar
Candidose oral
Candidose vulvovaginal persistente ou que responde mal ao tratamento.
Displasia do cérvix moderada ou grave ou carcinoma do cérvix <i>in SIDA</i>
Febre (superior ou igual a 38,5 °C) ou diarreia durante mais de 1 mês
Leucoplasia oral vilosa
Herpes zóster (2 episódios ou 1 que afete mais de um dermatomo).
Listeriose
Doença inflamatória pélvica
Neuropatia periférica

---

Esta nova classificação, mais amplamente aceite por simplificar as categorias clínicas e clarificar algumas situações até aí ambíguas, gerou alguma controvérsia, nomeadamente na Europa, cujo centro para o controlo epidemiológico da SIDA decidiu por unanimidade (numa reunião em setembro de 1991) não aceitar a contagem de linfócitos CD4 inferior a 200 como critério definidor de SIDA, invocando fatores de índole operativa, psicológica e social [92].

O sonho da erradicação desta infecção surgiu em 1997, quando o presidente dos EUA, Bill Clinton, desafiou os investigadores a desenvolver uma “vacina efetiva num prazo de 10 anos”. Desde então, uma intensa atividade de investigação, realizada inicialmente pela “*National HIV Vaccine Trials Network*”, atualmente feita a nível global, em vários centros de investigação, com muitas expetativas a saírem até hoje goradas [85]. Entre as maiores dificuldades, é de realçar a capacidade do vírus se proteger e permanecer latente em reservatórios do hospedeiro [93,94]; as sucessivas mutações [95]; a dificuldade em encontrar um animal com uma resposta imunológica semelhante à do Homem [96] e os problemas éticos que envolvem os ensaios clínicos [85,97]. Perante tantas dificuldades, o controlo efetivo da infecção vírica por vacinação continua até hoje sem uma resposta.

Dados da Organização das Nações Unidas (ONU) contabilizam até 2012 cerca de 34 milhões de infetados pelo VIH, tendo a SIDA causado a morte a mais de 25 milhões de indivíduos (cerca de 1,7 milhões só em 2012). Os infetados estão localizados maioritariamente na África subsariana e na Ásia, onde as condições higienosanitárias são precárias, o diagnóstico é deficitário e o tratamento não chega a toda a população. Os 2,5 milhões de novos infetados em 2012 localizam-se sobretudo em África e, apesar de tudo, esse número é cerca de 50% inferior ao de anos anteriores. Mais de 17,3 milhões dos

casos, ou seja mais de metade, são indivíduos do sexo feminino e a maioria (13,2 milhões) são habitantes da África ao sul do Sara [44]. O facto da via sexual se ter tornado desde 1986 a principal via de transmissão torna os indivíduos do sexo feminino um alvo fácil do VIH.

O VIH pertence à família *Retroviridae*, género *Lentivirus*, definidos por terem em comum a estrutura, a composição e as propriedades replicativas. Os lentivírus produzem infeções lentas e, normalmente, irreversíveis, que atingem o SI e também o sistema nervoso central (SNC) [98-100].

A teoria mais consensual quanto à origem deste vírus baseia-se em fenómenos de recombinação e evolução do vírus da imunodeficiência dos símios (VIS), que aconteceram após a sua transmissão ao Homem. Os VIS são vírus distribuídos por várias espécies de macacos e chimpanzés, com localização geográfica preferencial no continente Africano, onde hoje se acredita ter tido a sua origem. O VIH-1 será resultante do VIS dos chimpanzés (VIScpz) da subespécie *Pan troglodytes* e o VIH-2 do VIS dos macacos (VISsm/VISmac) do género *Macaca spp* e da espécie *Cercocebus atys* [101,102]. A infeção será, então, uma zoonose que se difundiu e se transformou numa pandemia em meados do século XX, devido às migrações massivas (principalmente dos meios rurais para as cidades), à coabitação e à liberalização dos hábitos sexuais [101,102].

O VIH-1 tornou-se a principal causa de infeção por VIH, estando distribuído por todo o mundo, enquanto o VIH-2 é endémico na África Ocidental, onde foi primeiramente identificado. Caracteriza-se por ser menos patogénico, menos transmissível, não tendo por isso uma distribuição tão global [103]. Portugal, devido à sua associação histórica a países africanos, em particular com a Guiné Bissau, tem entre os infetados uma grande prevalência de infeções por VIH-2 que, por ser menos agressivo, raramente obriga a tratamento [98].

Em termos filogenéticos distinguem-se três grandes grupos no VIH-1, o M, o N e o O, sendo o grupo M, o mais disseminado em todo o mundo, subdividido em nove subtipos. O VIH-2 possui sete subtipos, classificados de A a G (Figura 1), sendo o grupo A o mais prevalente [98,103-105].



material genético, efetuar a transcrição reversa do seu ácido ribonucleico (ARN) e replicar, utilizando e manipulando a seu favor, a estrutura reprodutiva da célula hospedeira [98,107,108].

As elevadas taxas de replicação na ausência de tratamento (cerca de 100 milhões de viriões formados por dia) e de mutação do vírus facilitam a progressão do seu genoma dentro das células do hospedeiro, fazendo ainda com que os antirretrovíricos (ARV) percam rapidamente a sua eficácia. O seu especial tropismo pelas células que regulam o SI faz com que as patologias associadas à sua presença tenham uma evolução compatível com uma progressiva deterioração imunológica, caracterizada pela instalação de tumores e infecções oportunistas cada vez mais graves e incapacitantes [95,98,99,107,109,110].

Atualmente, e tal como no início, a arma mais eficaz contra a epidemia continua a ser a prevenção.

O resumo da evolução natural e avanço terapêutico deu origem a um artigo aceite para publicação na revista da Ordem dos Farmacêuticos com o título “Infecção por VIH: HISTÓRIA, EVOLUÇÃO E TRATAMENTO” (Anexo 1).

## Capítulo 2.

### Organização estrutural e genômica, replicação do VIH e resposta do hospedeiro

**Estrutura:** O VIH, com cerca 100 nm de diâmetro é, como a maioria dos vírus, constituído por várias camadas: o invólucro, o core, a matriz, e a mais interior, a nucleocápside. O invólucro, composto por uma bicamada lipídica formada a partir da membrana da célula do hospedeiro, é onde se ligam as 72 proteínas da superfície e do core [98]. Estas proteínas de superfície projetam-se como espículas e são designadas por *Env*; cada uma é composta por duas subunidades (Figura 2): a mais exposta é a glicoproteína de superfície (gp120/SU), responsável pela adesão da partícula vírica à célula hospedeira, e a subunidade menor, a glicoproteína transmembranar TM (gp41/TM), contém o chamado péptido de fusão que interage com os corecetores e promove a fusão do vírus com a membrana da célula hospedeira [111]. A proteína Env pode promover a fusão entre células infetadas e células vizinhas que expressem CD4 e o corecetor adequado, resultando na formação de células gigantes multinucleadas – os sincícios. Este é, ao que parece, o principal modo de infeção dos linfócitos T e a proteína Env é, por ser a mais exposta, o principal alvo para a resposta imunitária humoral do organismo infetado [112-114].

Ligado ao invólucro encontra-se o core, formado pela proteína da cápside p24 (CA), a mais precocemente detetada no soro de pacientes infetados e que protege a nucleocápside vírica, formada pelas proteínas p6 e p7-NC, que protegem o genoma vírico. Este é constituído por duas cadeias de ARN simples, de polaridade positiva, com cerca de 9 Kb de comprimento, e pelas enzimas víricas protéase (p11, PR), retrotranscriptase (p66/p51, RT) e integrase (p31,IN) [98,99,115].



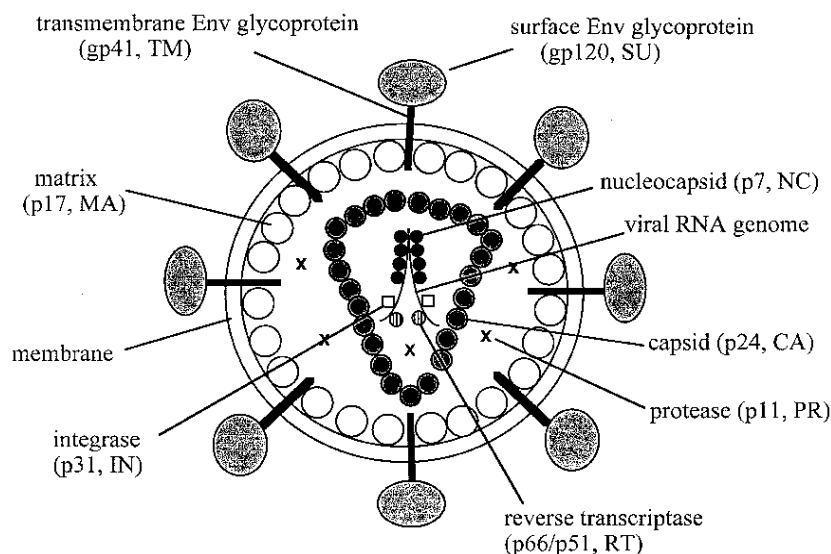


Figura 2. Estrutura do VIH  
(Retirado de: Freed e Martin [98])

Entre o core e a nucleocápside localiza-se a matriz, constituída essencialmente pela proteína p17 (MA). Esta forma uma capa de proteção para preservar a integridade do virião, é importante para incorporação do invólucro nos viriões maduros e, também, faz parte do complexo de pré-integração (PIC) do ácido desoxirribonucleico (ADN) vírico para o núcleo. Todas as proteínas víricas são primariamente sintetizadas em bloco como proteínas precursoras, que são depois clivadas por protéases [99].

Os retrovírus possuem duas formas genómicas: uma de ARN de cadeia simples, na fase extracelular, e uma de cadeia dupla de ADN (denominada pró-vírus), dentro da célula. O genoma dos retrovírus é constituído por três genes *major* que codificam as proteínas essenciais à estrutura e processo replicativo: o *gag* (*group-specific antigen, capsid, matrix and nucleic acid binding proteins*), o *pol* (polimerase, protéase e integrase) e o *env* (*glicoproteína env*) - dispostos num monofilamento de ARN na sequência: 5'-LTR-gag-pol-env-LTR-3' (Figura 3). Os terminais LTR (*long terminal repeat*) são, como o nome indica, sequências repetidas nos extremos do genoma, contendo sinais para a integração, iniciação e regulação da transcrição. As sequências de ADN codificadas pelos terminais LTR contêm locais de ligação ao hospedeiro, essenciais para que os LTR cumpram as funções reguladoras a nível molecular, ou seja, aumentar ou diminuir as taxas de replicação. O LTR da extremidade 5' funciona como promotor de transcrição de todo o genoma, enquanto o LTR em 3' fornece o sinal de poliadenilação do ARN vírico nascente [98,99].

O VIH-1 é um retrovírus complexo contendo mais 2 classes de genes, além dos 7 genes habituais. Estão localizados na região central do ADN pró-vírico e dividem-se em três classes: genes do complexo estrutural *major* (*gag*, *pol* e *env*), genes reguladores da replicação vírica (*tat* e *rev*) e genes acessórios (*vpr*, *vif*, *nef* e *vpu*). Entre o VIH-1 e o VIH-2 existe uma semelhança de cerca de 50% na sequência de nucleótidos, sendo que o gene acessório *Vpu* é substituído pelo *Vpx* no VIH-2 [98,99].

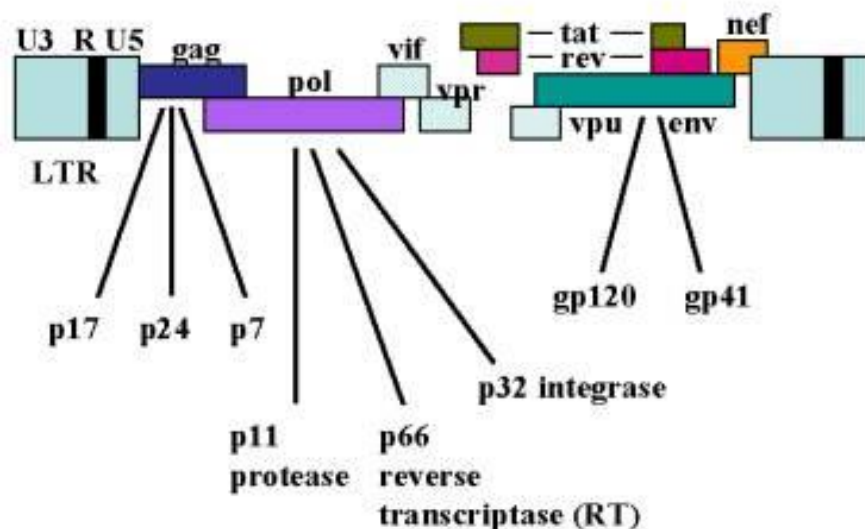


Figura 3. Diagrama da organização genómica do VIH-1  
(Retirado de *HIV Medicine* [116])

**Genes do complexo estrutural “major”:** O gene *Gag* codifica para a proteína Pr55gag que, após a ação de uma protéase vírica durante o processo de maturação, dará origem às proteínas da matriz (p17- MA), da cápside (p24 CA) e da nucleocápside (p7-NC), e à proteína p6. O gene *Pol* codifica a proteína Prgagpol160 que dará origem às enzimas protéase (p11, PR), retrotranscriptase (p66/p51, RT) e integrase (p31, IN). O gene *Env* codifica a proteína precursora de 160 Kd (a Pr160env) que, neste caso, será processada por protéases celulares originando as glicoproteínas da superfície gp 120, (SU) e gp 41,8 (TM) [98].

**Genes reguladores da replicação vírica:** A transcrição do ADN pró-vírico do VIH é mediada pela ARN polimerase II celular; no entanto, para que o processo se realize com eficácia é essencial a regulação pela proteína *Tat*. De realçar que, na sua ausência,

cerca de 50 a 60 nucleótidos não são viáveis. Além desta função principal, a proteína Tat está de algum modo implicada noutros processos de patogénese vírica (por exemplo apoptose, libertação de quimiocinas e inibição da expressão do complexo *major* de histocompatibilidade (MHC) de classe I, interagindo com proteínas celulares [117].

A proteína *Rev* participa na regulação da expressão do genoma do VIH-1 complementando as funções da Tat. A proteína *Rev* atua também ao nível pós-transcricional, como regulador no processamento e transporte das moléculas de ARN vírico, não transcritas do núcleo para o citoplasma, processo fundamental para a expressão das proteínas estruturais, necessárias para o arranjo e libertação de partículas víricas infecciosas [117-119].

O ADN do VIH-1, integrado no genoma do hospedeiro, gera três tipos diferentes de ARNm: i) não processados, que codificam as proteínas do Gag e Gag/Pol, ii) semi-processados, que codificam o Env, Vif e Vpu e iii) completamente processados, que codificam para as Tat, Rev e Nef [117-119].

**Genes acessórios:** Aparentemente estes genes não são absolutamente necessários à replicação; no entanto, parecem exercer um papel na interação com o hospedeiro, aumentando a infeciosidade do vírus [110]. O VIH é capaz de replicar em células que não estejam em fase de replicação ativa. A proteína Vpr permite a detenção da célula na fase G2 do ciclo celular, aparentemente pela inibição do complexo ciclina cinase B-p34cdc2, etapa onde o LTR do VIH-1 se apresenta mais ativo [123,124]. Ao que parece, atua também na diferenciação celular e transporte do PIC para o núcleo das células infetadas, o que reduz o tempo entre a infeção inicial e a produção ativa de novos viriões [98,119,120].

As proteínas *Vif*, codificadas pelo gene *Vif*, estão presentes no local de composição e libertação do vírus, o que lhes permite modular a libertação do mesmo. Em relação à sua patogénese direta, a *Vif* parece inibir a proteína APOBEC (enzima catalítica da edição de ARN mensageiro para apolipoproteína B), proteína que confere uma intrínseca resistência celular ao VIH-1. Ao ligar-se à APOBEC a *Vif* protege o vírus da ação desta, preservando a sua infeciosidade [121].

Recentemente foi demonstrado que a *Vif* também é importante para o processamento do Gag [103,104,124]. Estudos *in vitro* com estirpes de vírus defetivos nos diferentes tipos de proteínas acessórias (entre os quais o *Vif*) mostraram que isso resultava na inibição da replicação, com a paragem celular em G2 [122].

O gene *Nef* tem um papel fulcral na infeciosidade vírica, protegendo-o das defesas do hospedeiro, sendo assim fundamental para a disseminação e eficiente replicação do VIH *in vivo*. Entre os vários moduladores de sinalização celular, o Nef, agindo em associação com as quinases celulares [117], é o principal gene de virulência tanto *in vivo* como *in vitro* [123]; promove a remoção do CD4, CD28 e MHC-I da superfície da célula infetada, por mecanismos de endocitose, e permite às células infetadas não serem detetadas e destruídas pelo SI celular do hospedeiro [98,124]. Vírus com deleções na proteína *Nef* foram encontrados em pacientes não-progressores da infeção [123,125].

As principais funções da fosfoproteína *Vpu* consistem em aumentar a libertação de viriões e promover a degradação do recetor CD4. Apesar do modo de agir distinto, a sua atividade é complementar à da Nef, aumentando a infetividade vírica e permitindo a evasão ao SI [117,119,123].

**Recetores do VIH:** O antígeno CD4 foi, desde muito cedo, reconhecido como o recetor preferencial para o VIH [112]. Posteriormente, caracterizaram-se outros antígenos e outras moléculas, como aminoglicanos (a galactosilceramida-GaC) e lecitinas tipo C (*DC-sign* e *L-sign*), que também podiam mediar a adesão e a infeção por VIH [126,127].

O CD4 está expresso em aproximadamente 2/3 dos linfócitos T do sangue periférico, nos monócitos e nos macrófagos, por isso genericamente denominadas células CD4. A molécula CD4 tem uma importante função fisiológica como corecetora do recetor das células T, nas interações com as moléculas do MHC II), bem como na ativação dos linfócitos T *helper* e na propagação vírica célula-a-célula [114,128].

A galactosilceramida parece estar implicada na mediação da infeção de uma série de células sem CD4, de origem neuronal, epitelial e cervical [127].

As lecitinas, responsáveis pelo chamado “fenómeno de facilitação” da infeção, estão presentes na superfície das células dendríticas e macrófagos tecidulares permitindo a infeção de células circundantes e a propagação da infeção até aos órgãos linfoides [126,129].

Foram também já reconhecidas estirpes de VIH capazes de utilizar a molécula CD8 como recetor, o que sugere uma capacidade de mutação do VIH para poder utilizar outras moléculas como recetores, quando acontecer uma depleção nos seus alvos preferenciais – as moléculas CD4 [130,131].

Quando se verificou que as células sem CD4 eram infetáveis pelo VIH, procuraram-se outras vias de adesão [108]. Dessa investigação foram identificadas duas moléculas que funcionam como corecetores: o CCR5, recetor natural das quimiocinas produzidas pelos linfócitos T CD8 (*Rantes – regulated on activation normal T-cell expressed and secreted*, MIP– *macrophage inflammatory protein 1 $\alpha$*  e 1 $\beta$ ); e o CXCR4, também denominado por Lester ou Fusin, recetor da quimiocina CXC (SDF-1, de *stromal cell-derived factor 1*) [113,132].

**Corecetores do VIH:** Apesar do alvo preferencial do VIH sejam as moléculas CD4 dos linfócitos T, os corecetores de quimiocinas CCR5 e CXCR4 podem também ser encontrados nos macrófagos e tímócitos, bem como nas células do cólon, cérvix e neurónios, o que os torna também alvos diretos deste vírus [133].

Depois de se conhecerem estes recetores principais, muitos outros recetores de quimiocinas foram identificados como alvos do VIH. De realçar o CCR3, expresso em monócitos, células T, eosinófilos e células da micróglia [139] que, juntamente com o CCR5, parece ser importante na infeção do SNC e na demência associada à SIDA [55].

**Ciclo de replicação:** A capacidade replicativa do VIH não é um processo autónomo – depende totalmente das células e fatores celulares solúveis do hospedeiro. A grande eficácia da replicação assenta na facilidade daquele se ligar e penetrar nas células alvo, e de as dominar a seu favor de modo a atingir o máximo poder replicativo no tempo de vida médio da célula infetada. Outro trunfo são os mecanismos adicionais que lhe conferem anonimato e evasão das várias formas de reconhecimento do SI, assim como a capacidade de modular a própria replicação, conseguindo perpetuar-se no organismo do hospedeiro [117,119].

O processo de replicação do VIH (Figura 4) inicia-se com a sua adesão aos recetores, maioritariamente células com CD4 na superfície, promovida pelo tropismo da gp120 da proteína Env [126]. A interação da glicoproteína SU com o recetor CD4 promove alterações conformacionais que facilitam uma maior aproximação à membrana citoplasmática celular. Esta ligação SU-CD4 e a interação subsequente com os corecetores CCR5 e CXCR4 são fundamentais para a fusão das membranas e entrada do vírus na célula, sendo o sucesso deste passo que determina a infetividade do vírus [98,129].

O CCR5 é o correceptor preferencial para estirpes com tropismo para os macrófagos, maioritariamente encontradas na fase inicial da infeção, enquanto o CXCR4 é o correceptor para os linfócitos, sendo identificado nas fases mais tardias. No decurso da infeção as estirpes passam a usar qualquer um dos correceptores [134,135], aumentando o painel de atuação bem como a sua infeciosidade [132,135].

Os monócitos e macrófagos, entre outras células (como as dendríticas e as suas congéneres epiteliais - as células de Langerhans [129,132]) são fundamentais na disseminação e patogénese da infeção porque, ao contrário dos linfócitos, não parecem ser tão sensíveis aos efeitos citopáticos do vírus. Assim, devido a uma maior longevidade, estas células continuarão a produzir vírus, e os monócitos pela sua mobilidade transportá-los-ão aos diferentes órgãos, inclusive ao cérebro [133,136].

Fase	Passos da replicação	Alvos terapêuticos
1	Ligação ao recetor CD4	Inibidores da ligação (gp120)
2	Ligação ao correceptor CCR5 ou CXCR4	Inibidores da adesão
3	Fusão	Inibidores da fusão
4	Transcrição reversa	Inibidores nucleosídeos e não nucleosídeos da retrotranscritase
5	Integração	Inibidores da integração
6	Transcrição	Inibidores da maturação
7	Translação	
8	Clivagem de polipéptidos	Inibidores da protease
9	Libertação do vírus	Inibidores da libertação

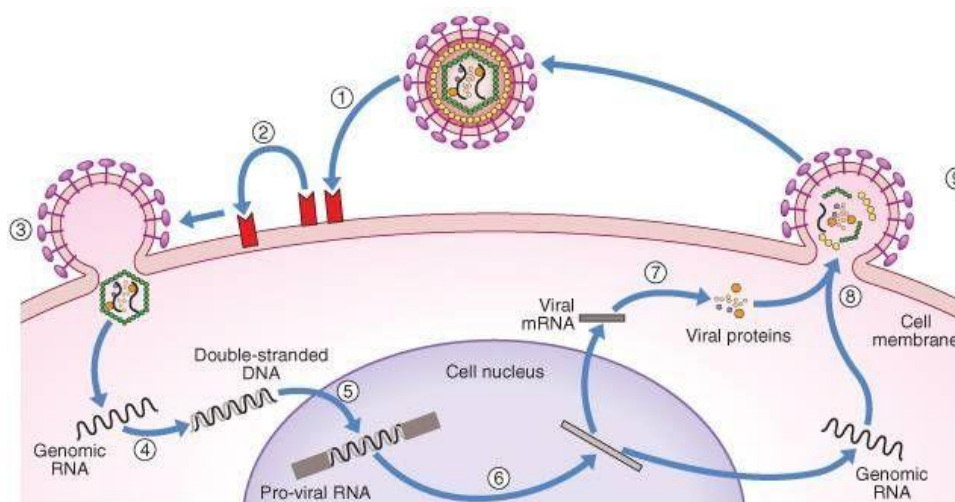


Figura 4. Ciclo de replicação e alvos terapêuticos  
(Adaptado de Boon *et al.* [137])

Após a ligação ao correceptor, é a região hidrófoba N-terminal da proteína TM, designada por “péptido de fusão”, que através dos domínios helicoidais HD1 e HD2 permite a subsequente fusão vírus-célula. Depois de entrar, o vírus, desprovido de envólucro, sofre um processo de descapsidação e inicia-se a retrotranscrição e formação do PIC (complexo de pré-integração). A retrotranscrição ou transcrição reversa permite a conversão de ARN vírico em ADN pró-vírico de cadeia dupla, sendo realizada pela enzima retrotranscriptase (RT), um heterómero com duas subunidades de 66 e 55 KDa [98,107,108].

O ADN pró-vírico, inserido no PIC, é transportado para o núcleo onde a enzima integrase (IN) catalisa a sua integração nos cromossomas celulares. O ADN pró-vírico integrado, designado por pró-vírus, comporta-se como um gene celular [119,138].

Este processo pode desencadear-se de uma forma continuada, com grande efeito citopático sobre a célula infetada, ou produzir-se em estado de latência. A latência ocorre em várias situações: i) nas células em que o grau de replicação celular é mínimo ou nulo, caso das células do sistema mononuclear fagocítico e dos neurónios, que serão mais um reservatório do que uma fonte de produção de vírus [136]; ii) nos linfócitos portadores de formas do genoma pró-vírico integrado mas em produção lenta (até que sofram estímulo por antígenos ou citocinas [126,139]) iii) nos linfócitos cujo genoma do VIH não esteja completamente transcrito. Estas formas não integradas são extremamente lábeis, o que faz supor tratar-se de um processo de depuração do vírus *in vivo*. Alguns autores apontam este como mais um mecanismo patogénico do vírus, que contribui para aumentar a longevidade das células-alvo preferenciais, protegendo assim, também, a sua longevidade [126,140].

A replicação propriamente dita acontece com a transcrição do genoma pó-vírico e requer um estímulo das células infetadas [126]. A velocidade do processo depende de um jogo de forças e estratégias entre o vírus e o sistema imunitário do organismo, bem como de condições exteriores como as coinfeções por outros agentes [125,141]. Este processo de reativação é extremamente agressivo para as células. A partir dos pró-vírus sintetiza-se o ARN vírico, que dará origem às proteínas víricas, processo que se inicia na extremidade 5' do promotor LTR e é promovido pela proteína reguladora TAT, a qual adota uma estrutura secundária e desencadeia uma série de ligações e interações indispensáveis para que a transcrição pela ARN-polimerase II prossiga sem interrupção. [119].

A proteína *Tat*, altamente patogénica, atua como um indutor na regulação da transcrição total do genoma, interage com proteínas responsáveis pela transcrição, com

enzimas antioxidantes (tais como a superóxido dismutase dependente do manganês - Mn-SOD) e induz a produção de interleucinas, caminhos que conduzirão ao stresse oxidativo celular e à apoptose [117].

O primeiro passo da formação das novas proteínas víricas depende das precursoras Pr55 Gag e Pr160Gagpol. Estas acumulam-se em dímeros na face interna da membrana citoplasmática (eventualmente ligadas à proteína transmembranar – TM), ao qual se segue o processo de encapsulação das duas moléculas de ARN. Este último processo depende da proteína da nucleocápside, que possui dois motivos “*zinc finger*”, um dos quais dá o sinal ao ARN vírico da extremidade 5'. A interação ARN-NC (nucleocápside) parece ser também essencial para a dimerização do precursor do gag que, por sua vez, é essencial para a formação da partícula vírica.

Durante a libertação das partículas víricas, a protéase vírica, uma aspartil-protéase funcional apenas na forma dimérica, processa proteoliticamente os precursores Gag e Gagpol, gerando as proteínas funcionais. Seguem-se uma série de rearranjos nos componentes do vírus. A proteína da matriz (MA) é a única que fica ligada ao invólucro, enquanto as proteínas da cápside (CA) e nucleocápside (NC) se condensam à volta do genoma, originando a cápside cônica característica do vírus maduro e infeccioso. A membrana externa provém da célula infetada durante o processo de eclosão vírica. Neste processo podem também ser libertadas partículas livres de Gp120 [98,107,108].

**Evolução da infeção:** A evolução natural (sem tratamento) da infeção pelo VIH -1 depende do balanço final da viremia e do grau de imunossupressão do indivíduo (Figura 5), sendo por isso variável conforme a idade e também de indivíduo para indivíduo. Tipicamente, a infeção no adulto estende-se por cerca de uma década. Começa com uma infeção primária, caracterizada pelo SVA (síndrome vírico agudo) e pela disseminação do vírus pelos órgãos linfáticos com aparecimento de LGP (linfadenopatia generalizada persistente) onde a viremia é elevada e a contagem de linfócitos T CD4+ baixa para cerca de metade do normal. Após esta fase, instala-se um período de latência clínica ou infeção crónica assintomática, mas onde o vírus continua a sua replicação, a invasão de órgãos e tecidos e a destruturação dos órgãos linfoides. Com o aumento da expressão VIH há uma queda abrupta dos linfócitos T CD4+ e o aparecimento de doenças oportunistas e outras que dependem diretamente do vírus. Há uma relação conhecida entre o número destas células e o tipo de infeção oportunista manifestada. Por exemplo, as infeções que potencialmente aparecem em primeiro lugar são as provocadas pelo vírus herpes simplex (HSV) porque estão associadas usualmente a contagens de



linfócitos CD4 entre 300-400 células/mm<sup>3</sup>, seguidas pelas infecções pelo vírus herpes zoster, para valores de linfócitos CD4 inferiores a 300 células/mm<sup>3</sup>. A maioria das infecções oportunistas aparece, contudo, quando os valores de linfócitos T CD4+ são inferiores a 200 células/mm<sup>3</sup> (Figura 6).

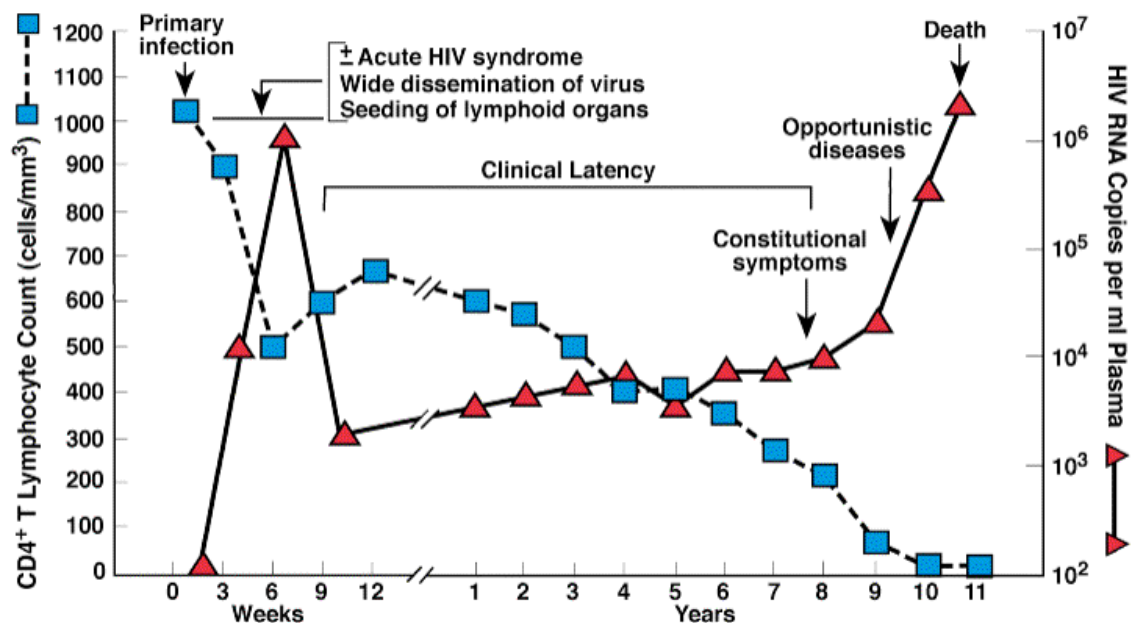


Figura 5. Evolução natural da infecção sem terapia antirretrovírica (ARV)  
(Retirado de: Fauci AS *et al.* [142])

A fase mais avançada da infecção é a SIDA, precedida do chamado Complexo Relacionado com a SIDA (CRS), ou, na terminologia inglesa, “*AIDS-Related Complex*” (ARC), onde começam os sintomas. Aqui a carga vírica aumenta abruptamente e é acompanhada, em sentido inverso, pela queda dos linfócitos CD4. A morte, na ausência de tratamento, acontece geralmente cerca de dois anos após o início dos sintomas [143].

Certas condições (anomalias nos recetores ou corecetores, por exemplo) poderão tornar o hospedeiro “resistente”, “não progressor” ou “progressor lento” da infecção ou, pelo contrário, fazer com que o declínio do SI e a chegada à fase final de SIDA aconteça mais rapidamente que o normal (ver interação com hospedeiro). Entre os critérios até hoje aceites como indicativos de início da terapêutica, estavam o aparecimento de uma infecção ou o número de linfócitos T CD4 ser inferior a 200 células/mm<sup>3</sup>. Hoje, como se verá mais adiante, a tendência é para um início mais precoce do tratamento. A estratégia terapêutica passa pela profilaxia destas infecções oportunistas [52,144], de modo a

preservar o SI e a condição física do hospedeiro, e pelo uso de fármacos ARV, em potentes associações. Atualmente estes fármacos são administrados em coformulações, para potenciar a adesão à terapêutica, e atuam nas fases fulcrais da replicação vírica (adesão, fusão, retrotranscrição e/ou integração (Figura 4) [145,146].

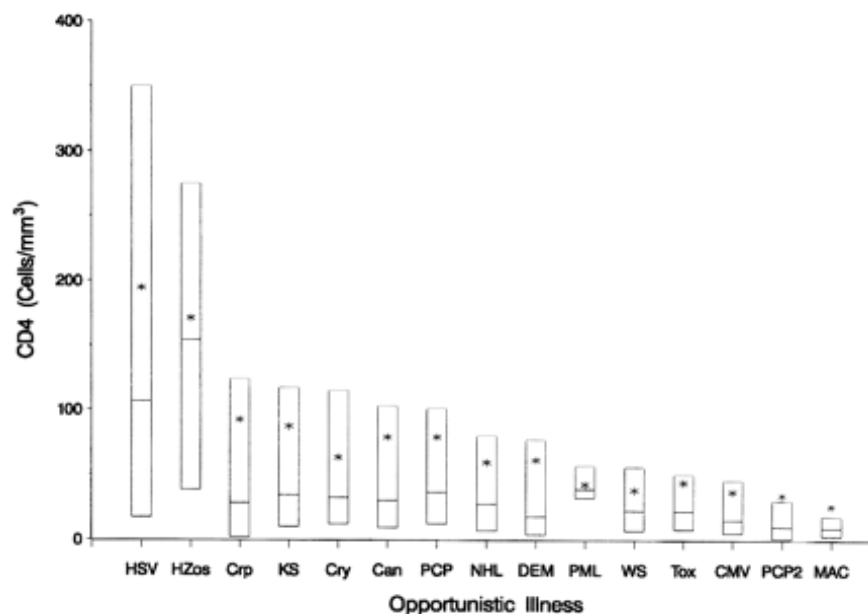


Figura 6. Relação entre o número de células CD4 e a probabilidade de aparecimento de infeções oportunistas

Can: candidose esofágica; CMV: citomegalovírus; Crp: criptosporidiose; Cry: meningite criptocócica; DEM: demência associada ao VIH; HSV: vírus herpes simplex; HZos: herpes zoster; KS: sarcoma de Kaposi; MAC: *mycobacterium avium complex*; NHL: linfoma não-Hodgkin; PCP: pneumonia primária por *Pneumocystis carinii*; PCP2: pneumonia secundária por *Pneumocystis carinii*; PML: leucoencefalopatia multifocal progressiva (pelo vírus JC); Tox: *Toxoplasma gondii*; WS: *wasting syndrome*.

(Retirado de: Moore RD e Chaisson RE [144])

**Interacção com o hospedeiro:** A resposta do SI do hospedeiro (quando competente) inicia-se de imediato após a entrada do vírus, e para isso são recrutados todos os meios de reconhecimento e todas as linhas de defesa celular e humoral, numa atitude consertada para travar a infeção [147,148]. A defesa anti-VIH depende sobretudo da resposta imunitária celular inata, à custa de linfócitos T CD4 e T CD8, das células NK (*Natural Killer*), dos macrófagos e dos polimorfonucleares, além de fatores solúveis como interferões e interleucinas [110,147,148].

As células dendríticas são as principais células apresentadoras de antígeno e ativam a resposta imune inata e adaptativa; expressam o recetor CD4 e os corretores CCR5 e CXCR5 sendo, por isso, alvo direto do vírus. As células dendríticas

plasmocitoides (CDp) e mieloides (CDm) são os principais produtores de interferão (IFN- $\alpha$ ) e interleucinas [112,123,149,150].

As interleucinas dirigem o recrutamento e a ativação das NK, dos linfócitos T efectores e de memória e dos macrófagos que se acumulam nos locais de replicação do VIH [132,133,149,151] (Figura 6).

Os linfócitos CD4, além de cooperarem na resposta T e B, como indutores, podem surgir como linfócitos específicos anti-VIH. As consequências da diminuição e disfunção das células T CD4+ são devastadoras, já que elas são responsáveis pela coordenação de todo o sistema imunitário, celular e humoral, operando através de mecanismos como: i) ativação dos macrófagos; ii) indução das funções das células T citotóxicas, das NK e dos linfócitos B; iii) secreção de uma variedade de fatores solúveis, de crescimento e diferenciação das células linfóides e hematopoiéticas [133].

É conhecida a correlação inversa entre a viremia e o número de linfócitos CD4+ no sangue periférico, e a sua diminuição é usada como orientação terapêutica e conotada como mau prognóstico [99,133,152]. A estimulação dos linfócitos B leva à produção de anticorpos específicos neutralizantes, os quais se unem às proteínas víricas e interatuam com os recetores e corecetores prevenindo a entrada do VIH nas células alvo. Também tem sido observado que, durante a infeção, se induz uma ativação policlonal dos linfócitos B, com produção de anticorpos contra proteínas próprias do hospedeiro, fenómeno associado aos processos de auto-imunidade, que acontecem durante a infeção [110]. Apesar de todo este processo, a resposta ao VIH é paradoxalmente ineficaz por múltiplas razões, entre as quais se destacam [99,107,121]: i) a persistência dos vírus em reservatórios faz com que este se evada dos mecanismos efetores do SI e da atuação dos fármacos, pelo difícil acesso [153,154]; ii) a alta taxa de mutações [91,133]; iii) a regulação negativa das moléculas do HLA nas células infectadas (mediada de uma forma independente pelas proteínas Nef e Vif), que previne o reconhecimento do VIH pelos linfócitos T citotóxicos [53,155]; iv) a inibição das NK por vários mecanismos [110]; v) a geração de um estado persistente de hiperativação imunológica que altera funcionalmente diferentes subgrupos de leucócitos, favorece a apoptose e gera a completa disfunção do SI [132,156]; vi) a atrofia e disfunção tímica e dos órgãos linfóides, com defeitos de produção e maturação dos linfócitos T CD4 e CD8 [148]; vii) a diminuição do número dos linfócitos T CD4, com todas as consequências já referidas [99,133,139]; viii) a mudança no tropismo do vírus de R5 para X4, ou a aquisição de duplo tropismo, que faz com que se torne resistente ao bloqueio mediado por citocinas, que tenha um

maior painel de células alvo e que promova a formação de sincícios, alargando a morte às células adjacentes mesmo que não infectadas [113,135].

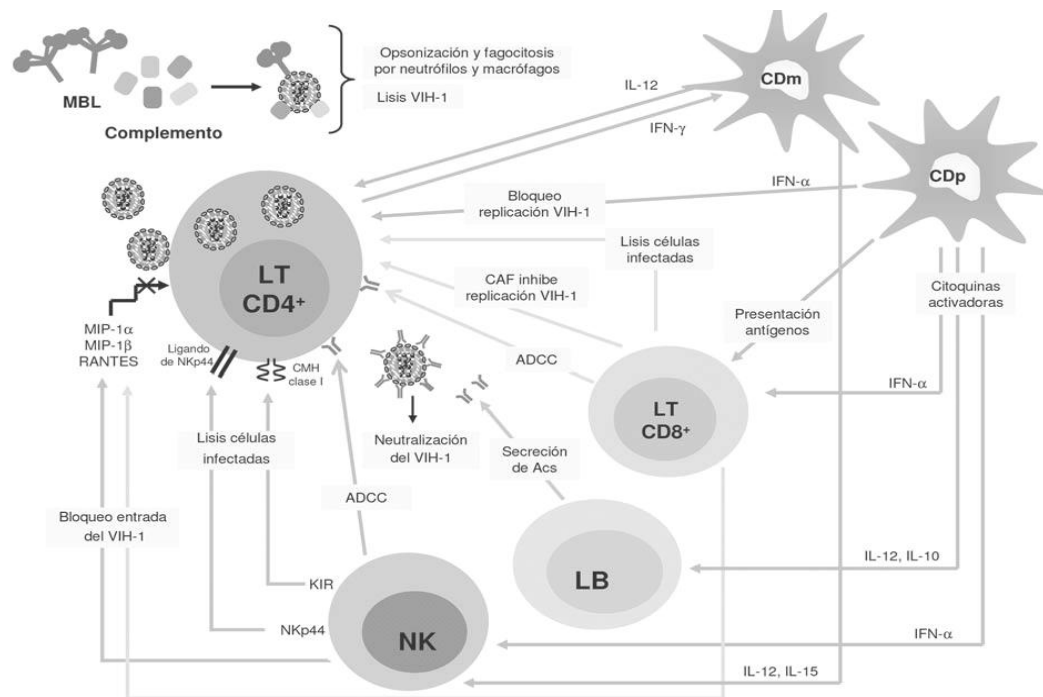


Figura 7. Mecanismos da resposta imunitária contra o VIH  
(Retirado de: Guarin MCJ, *et al.* [148])

A patogénese da infeção VIH é, por todos os mecanismos que envolve, um processo complexo, que não poderá ser entendido sem que se avalie a interação do vírus, na sua infeciosidade, com o hospedeiro, e a sua genética e o seu SI. Fatores inerentes ao vírus condicionam naturalmente todo o processo e rapidez da infeção. De referir a diferença entre a infeção por VIH-1 e VIH-2. No que respeita mais diretamente ao VIH-1, algumas variantes com genes defeituosos que codificam para as proteínas regulatórias tat e rev e para as acessórias vif, vpr, vpu e nef, têm, como já foi referido, mais baixos níveis de replicação e infeciosidade. Por outro lado, diferentes padrões genéticos e diferentes respostas do SI dos infetados induzem alterações ao padrão normal da infeção, verificando-se, até, que indivíduos repetidamente expostos ao vírus permanecem sãos, o que sugere a existência de mecanismos de resistência natural à infeção [132,141,148].

Verificou-se que a presença de certos alelos do MHC classe I e II se têm associado com a progressão lenta da infecção ou a evolução acelerada para a SIDA e que o grau de concordância do MHC classe I entre a mãe e o feto é um fator determinante na transmissão vertical [107,157].

Os casos em que a evolução da doença foge aos padrões normais envolvem fenómenos complexos ainda não completamente estudados. Os casos de sobreviventes depois de um grande tempo de infecção foram sendo classificados na literatura, ao longo do tempo, como “*long-term survivors*”, “*asymptomatic long-term survivors*” ou “*long term non progressors*” [141].

Hoje a classificação distingue os fenótipos “não progressores” baseando-se primariamente no valor da CV. Define-se hoje como “controlador de elite” o infetado por VIH-1 com CV inferior a 50 cópias de ARN/mL e o “controlador virémico” aquele que apresenta uma CV entre 50 e 200 cópias de ARN/mL, na ausência de terapêutica ARV [158].

Estudos efetuados nesta população permitiram concluir que o mais alto grau de resistência à infecção se observa em indivíduos com a mutação delta-32 (D32), o gene que codifica para o correceptor vírico CCR5, condição que só se verificou em 2% a 4% dos expostos com serologia negativa, e numa baixa percentagem na raça Caucasiana (1%) [110,148,159], o que torna esta situação um contínuo motivo de estudo mas que dá como certo que a alteração de genes será só parte da explicação nos fenómenos de resistência, dado que não se comprova em todos os casos [159].

O conceito atual de cura da infecção por VIH engloba os conceitos de “cura esterilizante”, em que, em teoria, a totalidade de ADN-VIH latente é eliminada; e a “cura funcional”, em que a forma latente de VIH persiste, mas a viremia é muito baixa ou ausente após a suspensão da terapêutica ARV [158]. Casos de cura têm sido noticiados ultimamente, como é o caso do “doente de Berlim”, infetado por VIH-1, cuja doença regrediu após ter sido submetido a um transplante de medula óssea (devido a uma leucemia) de um dador que apresentava a anomalia delta 32 nos coreceptores CCR5 e, mais recentemente, o caso de um recém-nascido que fez tratamento desde as 31 horas após nascimento até as 18 semanas. Em ambos a viremia foi muito baixa ou ausente após suspensão da terapia ARV, o que faz, mais uma vez, acreditar que é possível recuperar desta patologia. Outros fatores importantes na patogénese incluem a idade, a via de transmissão, o stresse e as infeções concomitantes, que, tal como noutras infeções, são estimuladoras e facilitadoras da infecção por VIH [121,132,133].

## Capítulo 3.

### Terapêutica antirretrovírica

No ano seguinte à descoberta da infecção, o *Nacional Institute of Health* (NIH), dos EUA, criou o “*AIDS Clinical Trials Groups*” (ACTG), onde foram sistematicamente testadas, em adultos e crianças infectados, moléculas que se apontavam como potenciais terapias para a doença [160]. As autoridades da Bioética, que questionaram desde logo a segurança dos participantes, impuseram uma regulação através de entidades competentes para que ficasse assegurado um compromisso entre a ética, a qualidade médica e o avanço científico [97,161].

Em 1987, a Zidovudina (ou Azidotimidina – AZT), sintetizada em 1964 como possível terapia para o cancro, revelou-se eficaz, atuando especificamente como inibidor da RT do vírus [162], tendo sido aprovada pela FDA como primeiro fármaco ativo contra o VIH [163].

O seu uso na rotina relatou casos de sucesso, mas também de efeitos tóxicos, o que veio refrear a expectativa inicial e exigir moderação no seu uso [164]. Apesar disso, em 1994 demonstrou-se que a Zidovudina, em certas condições, previne a transmissão do vírus de mãe ao filho durante a gravidez, o que lhe trouxe mais uma glória [165].

A partir desta descoberta, a RT foi o primeiro alvo de experimentação de potenciais ARV, e nos anos que se seguiram surgiram, após muita investigação e disputa entre equipas, dois novos inibidores nucleosídeos da transcriptase reversa (INRT), a Didanosina (DDI) e a Zalcitabina (DDC). Foram testados em combinação para potenciar efeitos (AZT+DDI ou AZT+DDC) com moderadas mas significativas diferenças positivas [77]. Hoje pertencem também à classe dos INRT, a Etricitabina (FTC), a Estavudina (d4T), a Lamivudina (3TC), o Abacavir (ABC), o Tenofovir (TDF) e, mais recentemente, o Fostavir (BMS986001), semelhante ao d4T, e o Tenofovir alafenamida (TAF), anteriormente designado por GS-7340, um pró-fármaco do TDF, que atinge maiores concentrações intracelulares e menores concentrações plasmáticas prometendo, assim, menos toxicidade renal e óssea [166].

As experiências com várias combinações de dois fármacos tinham no uso continuado cada vez menos sucesso, até que, em 1995, estudos clínicos com um inibidor da protease do vírus (ABT-538) revelou permitir obter uma acentuada queda no número de víriões plasmáticos, acompanhado de uma recuperação do SI, revelada pelo aumento

do número de linfócitos T CD4+ [152]. Surge então o primeiro fármaco do grupo dos inibidores da protease (IP), o Saquinavir (SQV), e, em 1996, é experimentada com sucesso a terapia tripla de elevada potência (em inglês, *highly active antiretroviral therapy* - HAART), conseguindo-se o controlo virológico e melhor preservação do SI, o que veio diminuir a morbilidade e mortalidade dos pacientes com SIDA [167,168]. Esta descoberta revolucionou claramente as decisões clínicas e as futuras abordagens terapêuticas.

Sabendo-se, então, que a população de linfócitos CD4 tinha potencial regenerativo, a carga vírica plasmática provou ser o melhor indicador preditivo da sobrevivência a longo prazo, passando a ser a peça central da informação acerca do início e mudança terapêutica [169].

Outro grande ganho desta primeira metade da década 1990 foi conseguido na profilaxia contra agentes oportunistas, especialmente o *Pneumocystis carinii* e o *Mycobacterium Avium Complex* (MAC), surgindo em julho de 1995 as primeiras indicações normativas para prevenção das infeções oportunistas [170].

Na segunda metade da década de 1990, com a colaboração da FDA, que suavizou a burocracia até aí associada à aprovação de novos fármacos [111], é aprovado o Efavirenze (EFZ), em 1998, o primeiro de uma nova classe de fármacos (a terceira), os Inibidores Não Nucleosidos da Transcriptase Reversa (INNRT), e com ele experimentaram-se novas combinações triplas [171].

Nos anos que se seguiram e até hoje foram aprovados outros INNRT: a Nevirapina (NVP), a Delavirdina (DLV), a Etravirina (TMC 125), e a Rilpivirine (TMC 278).

No grupo dos IP estão também disponíveis o Nelfinavir (NFV), Fosamprenavir (FPV), Indinavir (IDV), Ritonavir (RTV), Darunavir (DRV), Tipranavir (TPV), o Atazanavir (ATV) e o Darunavir (DRV) [172].

A terapia tripla HAART, constituída pela associação de 2 INRT + 1 IP ou 2 INRT + 1 INNRT, tornou-se desde então o padrão terapêutico como resultado não só do aparecimento de novos fármacos mas, principalmente, de uma luta contínua contra as falhas terapêuticas por resistência vírica [20].

O sucesso desta terapia implicava o consumo de um elevado número de fármacos e uma adesão terapêutica de, pelo menos, 80% [80], o que levou a indústria farmacêutica a conceber novas formulações que associam vários fármacos de modo a simplificar os regimes terapêuticos e promover a referida adesão [42,46].

Em março de 2000 aparece uma nova classe de fármacos – os Inibidores da Fusão (IF), que impedem a adesão do vírus ao recetor CD4. A FDA aprova em 2002 o Enfuvirtide, também conhecido como Fuseão ou T-20, forma injetável, para usar como alternativa em adultos e crianças com mais de seis anos quando não se conseguir controlar a infeção com os outros fármacos anti-VIH [86].

O Raltegravir (RAL) pertence a uma nova classe de fármacos, conhecidos como inibidores da integrase (II) do VIH, tendo sido aprovado pela FDA em 2007. Estes bloqueiam a atividade da enzima integrase, responsável pela inserção do ADN do VIH no ADN humano [173].

O Maraviroc (MVC9) é um fármaco que pertence à família de antirretrovíricos designada de inibidores dos corretores CCR5, aprovado para comercialização também em 2007.

Esta atitude concertada (profilaxia das infeções oportunistas e ataque ao vírus em todas as suas funções) veio permitir a preservação do SI e a diminuição da replicação vírica, o que alterou o curso, até aí habitual da infeção, resultando numa maior qualidade e longevidade dos infetados [167].

A terapia de alta eficácia trouxe, também, a outra face da moeda: complicações morfológicas e metabólicas associadas (e.g., lipodistrofia, dislipidemia e insulinoresistência) e a necessidade de as contornar num balanço de custo-benefício. A estratégia passa pela substituição de alguns fármacos por outros menos tóxicos e que não prejudiquem a eficácia e, paralelamente, o tratamento dos infetados, como a população em geral, com os antilipidémiantes e antidiabéticos disponíveis que não tenham grandes contraindicações nem interferências farmacológicas com os antirretrovíricos (ARV). Em 2000 e 2003 foram publicadas orientações para o acompanhamento da dislipidemia nos infetados sob tratamento [115,174].

Atualmente novos fármacos estão a ser desenvolvidos com o objetivo de diminuir essas complicações metabólicas e incrementar a eficácia. Candidatos a fármacos anti-VIH que exploram novos alvos do ciclo replicativo do vírus estão em fase de ensaios clínicos e pré-clínicos.

O Festinavir (BMS 986001) é um novo análogo da timidina semelhante à Estavudina mas com menor potencial de toxicidade, pois não atinge de forma tão significativa as mitocôndrias [166].



Relativamente aos INNTR, está a ser testada a nova molécula MK-1439 em doentes naïve, comprovado-se ser bem tolerado, com uma atividade ARV eficaz e sem evidência de resistências emergentes.

A associação Elvitegravir-Cobicistat (EVG-COB) foi recentemente aprovada como parte integrante de uma coformulação. O Dolutelgravir (DTG), outro inibidor da integrase, está atualmente em ensaio clínico de fase III. Tem demonstrado ter atividade em doentes com vírus resistentes ao RAL e ao EVG. O Cenicriviroc (CVC) é um novo agente antagonista dos corretores CCR5 e CCR2, apresentado recentemente na *Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections* (CROI), sendo-lhe atribuído também um potencial anti-inflamatório [175].

Por último, referência à BMS626529, uma molécula ainda em investigação, primeira de uma nova classe de fármacos que atua ligando-se diretamente à gp120 vírica, impedindo, assim, a ligação ao recetor CD4.

Como alternativa terapêutica existe ainda a geneterapia [176] e a Interleucina 2 (IL-2), usadas em monoterapia ou associadas à terapia ARV habitual [177,178].

Enquanto se desenvolvem esforços no sentido de se conseguir outras armas terapêuticas, com eficácia semelhante mas com menores efeitos secundários, a comunidade médica tem-se questionado quanto ao momento adequado para um indivíduo infetado iniciar a terapia, assunto objecto de alguma controvérsia [24,179].

Até ao ano de 2010 desaconselhava-se, em geral, o início precoce da terapêutica desde que não houvesse uma adesão de pelo menos 80%, uma vez que as resistências que se desenvolviam faziam com que rapidamente se esgotassem as alternativas terapêuticas. Os conhecimentos mais recentes demonstram, claramente, o benefício de um início mais precoce da terapêutica ARV quando o número de linfócitos CD4  $\leq 350$  células/ $\mu$ L. Contudo, existem debates centrados na possibilidade de se iniciar a terapêutica mais cedo, isto é, quando os valores de linfócitos T CD4 forem ainda  $> 500$  células/ $\mu$ L. O facto de se dispor de fármacos mais eficazes e com menos efeitos secundários poderá permitir atacar os vírus mais precocemente, não dando tempo para este se recolherem nos locais designados por “santuários víricos”, de difícil acesso imunológico e medicamentoso, e, desse modo, se perpetuarem no hospedeiro [41].

## **Capítulo 4.**

### **Dislipidemia e lipodistrofia associadas à infecção por VIH e à terapia HAART**

#### **4.1 Disglicemia associada à infecção por VIH e à terapia HAART**

Vários tipos de alterações lipídicas têm sido descritos no decurso de infeções, tanto agudas como crónicas, de diversas etiologias (bacterianas, parasitárias e víricas) [28]. As alterações mais frequentemente identificadas são a elevação dos níveis de TG plasmáticos e/ou a diminuição do CT, que inicialmente se interpretaram como a expressão da mobilização das reservas energéticas no contexto de uma resposta adaptativa à infeção [180].

Nas primeiras décadas da infeção pelo VIH, sem terapia, também se verificaram alterações do perfil lipídico, com o aumento dos níveis de TG e a diminuição dos níveis de CT, HDL e LDL a serem o padrão tipo [29-31]. A diminuição progressiva dos níveis de CT observou-se desde as fases precoces da história natural da infeção, acompanhando o aumento da CV e a diminuição do número de linfócitos T CD4+ [32] (marcadores da evolução da doença, como já se destacou). Admitiu-se que estas alterações pudessem dever-se à progressiva deterioração do estado nutricional dos doentes, mas isso não explica porque no decurso desta e de outras infeções baixam os valores de CT, cujas razões permanecem ainda mal esclarecidas [31]. Sabe-se que fatores derivados da infeção [23,24] interferem com o metabolismo lipídico e que os processos de reconstituição do SI [181] podem levar ao desencadeamento da dislipidemia ou ao agravamento da mesma [25].

Com o aparecimento dos ARV, especialmente quando o esquema de associação tripla se tornou padrão dos esquemas terapêuticos, houve uma mudança no prognóstico dos doentes infetados pelo VIH, com aumento na qualidade e na expectativa de vida, mas também surgiram alterações morfológicas e metabólicas associadas à sua utilização. Nas alterações morfológicas destaca-se a lipodistrofia, e nas metabólicas a insulinoresistência e a diabetes mellitus, a acidose láctica, as alterações ósseas e a dislipidemia [29,35,43,181-183]. Nesta, as modificações mais frequentemente identificadas variavam das inicialmente encontradas nestes doentes [184], onde além de

valores notavelmente aumentados dos TG e da redução no HDL também se verificavam aumentos de CT e LDL [37,38].

Esta alteração, coincidente com o uso generalizado do IP em indivíduos submetidos à terapia HAART [41-44], fez com que os investigadores responsabilizassem, agora, não o vírus, mas os fármacos, pelas dislipidemias identificadas [35,39,40].

Na procura de uma explicação para estes efeitos, Carr e colaboradores, os primeiros a evidenciá-los, colocaram como suspeita o local de ligação dos IP à protéase vírica. Algumas proteínas envolvidas no metabolismo lipídico têm uma estrutura similar [37] a esta proteína do vírus. Assim, estes fármacos inibiriam também essas proteínas humanas e, conforme a sua influência na expressão génica dos recetores envolvidos no metabolismo lipídico, provocariam alterações com diferentes intensidades.

Esta suspeita recaiu em primeiro lugar sobre as proteínas humanas CRABP-1 (proteína citoplasmática ligante de ácido retinoico tipo 1), distribuída por todos os tecidos, e a LPR (proteína associada ao recetor das LDL), presente nas células endoteliais e no fígado [37]. A sequência C-terminal da CRABP-1 apresenta uma homologia de 58% com a região catalítica da protéase do VIH, pelo que a inibição da CRABP-1 pelos IP induz uma redução na síntese do ácido 9-cis retinoico (principal ativador do recetor retinoide X - RXR) e do PPAR- $\gamma$  (recetor ativado por proliferadores de peroxissomas gama) [41,45,46]. A inibição da CRABP-1 tem como resultado final a diminuição da diferenciação, uma reduzida proliferação e o aumento da apoptose dos adipócitos periféricos [41,185], bem como uma baixa na regulação da produção de ApoC-III [35,47,48]. Como consequência, haverá uma diminuição dos depósitos de TG e aumento de AGL (ácidos gordos livres) no plasma [185]. Este ambiente rico em AGL, inibidores naturais da LPL [29,34,36], promove a síntese de mais TG e VLDL pelo fígado.

A LPR promove a remoção das lipoproteínas com apoproteína (Apo) E, ricas em TG, como as quilomícron (Qm), as VLDL e suas remanescentes [29,32,35,186]. A LPR apresenta 63% de semelhança com a protéase vírica [45], e a sua inibição tem como consequência um aumento paralelo de CT e TG, devido à permanência das lipoproteínas com Apo E em circulação [32,35].

A inibição da atividade da LPL e da LH (lípase hepática) é o terceiro dos mecanismos propostos. A infeção pelo VIH provoca alterações diretas na atividade da LPL e da LH, reduzindo as suas atividades [32-34]. A reduzida atividade da LPL diminui a depuração das VLDL e IDL (lipoproteínas de densidade intermédia), bem como das Qm

na fase pós-prandial, provocando um acentuado aumento dos TG plasmáticos e um pequeno aumento do CT [31,35,36].

Outros autores verificaram alterações da clearance das VLDL pela terapia HAART o que, somado aos mecanismos anteriores, explicaria os notáveis aumentos de VLDL e TG observados nestes tratamentos [29,47].

A predisposição genética também revelou ter um papel fundamental na variabilidade destas alterações [181]. O genótipo da Apo E-2 e os polimorfismos no gene da Apo C-III mostraram estar fortemente implicados no desenvolvimento da dislipidemia associada ao tratamento nos doentes com infeção por VIH [35,47].

A alteração do metabolismo lipídico foi largamente estudada em modelos experimentais – modelos animais e culturas de células humanas. Muitos desses estudos tornaram evidente que os antirretrovíricos, particularmente os IIP, interferem na diferenciação adipocitária, modificando a expressão dos genes reguladores do metabolismo lipídico, por inibição da expressão de fatores de transcrição adipogénicos [24,181,187]. Em modelos de murino observou-se, durante o tratamento com RTV, um aumento de proteína de ligação a elemento regulador de esterol (SREBP) 1 e 2 [181], com um incremento da lipogénese hepática, com aumento de CT e TG circulantes [35]. A transcrição do SREBP-1c não pareceu aumentar pela exposição ao RTV. Com base em dados recentes concluiu-se que os IP podem inibir, diretamente, a atividade proteossómica e, por diminuição da degradação, promover a acumulação de SREBP nuclear nos adipócitos e no fígado [45,181,188,189]. Do mesmo modo, provou-se que estes fármacos também interferem na *assemblage* e secreção de lipoproteínas pelo fígado [190]. O uso de IP (RTV e SQV) em células HepG2 levou a uma acumulação de Apo B intracelular, consequência também da inibição da sua degradação pelos proteossomas [37,191]. Esta disponibilidade facilita o aumento da sua secreção e das lipoproteínas a ela associadas [35].

Testes feitos em indivíduos voluntários sãos, aos quais se administrou também RTV em curtos períodos de tempo (*Seattle study*) [24,192], revelaram alterações no metabolismo lipídico, com elevações de VLDL sem que se demonstrassem efeitos na atividade da LPL, o que sugere que mesmo em curtos períodos de tempo o tratamento com IP, particularmente com o RTV, provoca um aumento directo de VLDL [31,32,192,193].

Outras experiências em doentes não tratados com IP foram também posteriormente publicadas [3]. Assim, por exemplo, o *Atlantic study* descreve aumentos de CT, LDL, HDL,

Apo A, Apo B e Lp(a) e uma redução do índice CT/HDL em doentes tratados com Nevirapina (NVP) [192]. Independentemente dos mecanismos e/ou do agente iniciante ou do tipo de fármaco, a dislipidemia e a insulinoresistência provocadas pela HAART estão hoje já suficientemente documentadas [39,43,183,194,195].

A incidência média da dislipidemia associada à HAART oscila entre 15% e 30%. A hipertrigliceridemia é o efeito metabólico mais comum, podendo os valores de TG aumentar cerca de 200% em relação aos níveis basais [49,50]. Considerando a classe dos IP, os números médios de dislipidemia podem atingir os 60%, variando os aumentos de TG entre 40 e 80% e os do CT entre 10 e 50% relativamente aos níveis basais [45].

O estudo D:A:D foi o maior estudo realizado até hoje no sentido de averiguar o verdadeiro risco cardiovascular associado à HAART. Entre dezembro de 1999 e abril de 2001 procedeu-se à observação prospetiva de 23.468 doentes com diferentes combinações de fármacos, seguidos em 188 clínicas de 21 países da Europa, EUA e Austrália. Em conformidade com outros estudos de menor dimensão, concluiu-se que a terapia ARV se associa de uma forma independente com o enfarte do miocárdio, neste caso com 26% de aumento de risco [196].

Os efeitos adversos da terapia ARV a longo prazo aumentaram de importância nos últimos anos e fizeram com que o esquema terapêutico tivesse que ser visto não só como uma arma no combate ao vírus mas também num contexto de aproximação à condição individual de cada infetado [183,191,197].

Assim, atualmente, conhecidos os riscos adicionais para a população infetada, o procedimento adotado é monitorizar e corrigir atempadamente as alterações lipídicas que a terapia possa desencadear. Deve proceder-se ao doseamento de lípidos antes de iniciar a terapia, bem como à recolha de dados sobre comorbilidades e/ou outras condições pré-existentes. Depois disso, ponderar-se-á sobre opções de tratamento e possíveis modificações de estilo de vida [80,94,122,134].

Em 2000 e 2003 publicaram-se orientações particulares para a monitorização da dislipidemia em indivíduos infetados sob terapia [115,174]. As atuais recomendações do *Adult AIDS Clinical Trials Group* (AACTG) seguem as últimas normas do *National Cholesterol Education Program* (NCEP). Estas encorajam à prática de exercício físico e a uma dieta adequada, que desencadeiam uma baixa dos níveis de lípidos. Em relação ao tratamento, tal como na população negativa, aquele deverá ser personalizado [198].

O recurso a fármacos dislipidiantes como as estatinas (Sinvastatina e Lovastatina não devem ser coadministradas pelo risco aumentado de miopatia, incluindo

rabdomiólise) deverá ser opção apenas para doentes com elevações isolada de LDL; para elevações isoladas de TG, a opção deverá ser os fibratos [198,199]. Nos casos combinados, deve ser primeira opção a estatina ou o fibrato e, como segunda escolha, a combinação dos dois, administrada sob apertada vigilância [200]. Nestes doentes também se recorre por vezes à substituição de componentes do esquema antirretrovírico HAART, desde que esta também se adapte ao doente em causa e não comprometa a eficácia do tratamento [37,45].

O estudo da dislipidemia associada a terapêutica foi objecto de um estudo por nós realizado no âmbito de uma dissertação de mestrado, tendo sido publicado sob o título “Lipid profile changes by high activity anti-retroviral therapy” na revista *Clinical Biochemistry* (n.º 46 de 2013, páginas 740-744) (Anexo 2). Este trabalho foi continuado e aprofundado no curso de doutoramento com o objetivo de entender até que ponto as modificações na terapêutica, com novas moléculas menos tóxicas e com a correção da dislipidemia com recurso a antidislipidémiantes (de acordo com as novas diretivas), mudaram o perfil da dislipidemia nestes doentes.

**Lipodistrofia:** A etiopatogenia da lipodistrofia foi inicialmente associada a vários mecanismos de toxicidade dos fármacos antirretrovíricos, que provavelmente atuavam de maneira sinérgica no seu desenvolvimento. Uma destas explicações seria a semelhança entre a lipodistrofia associada à HAART e o síndrome de Cushing, que se caracteriza por acumulações muito parecidas de tecido adiposo na região dorso-cervical. Estudos posteriores excluíram o desenvolvimento desse síndrome, que chegou a ser apelidado de pseudo-Cushing, como causador das acumulações de gordura nos pacientes VIH positivos, dado que não se verificaram os excessos de glucocorticóides característicos [170].

Outro mecanismo poderia ser a acumulação de gordura como consequência da recuperação do apetite depois da supressão da replicação vírica, mas este processo não explicava os fenómenos de lipoatrofia e o facto do grau de lipodistrofia ser independente da CV plasmática [44,201]. A inibição da diferenciação e da apoptose adipocitária foram os primeiros mecanismos propostos para explicar a lipoatrofia periférica [202].

Dada a complexidade dos estudos *in vivo* e o facto de que, em geral, doentes com SIDA recebem uma grande combinação de fármacos, foram realizados muitos estudos *in vitro*, utilizando linhas celulares de adipócitos brancos, para analisar o efeito direto dos fármacos ARV na diferenciação e função do tecido adiposo. Estudos de curta duração

mostraram os efeitos de inibição direta de alguns IP sobre a captação da glicose [203,204], inibição da sinalização da insulina [171] e inibição da diferenciação adipocitária [202]. Noutro estudo realizado em pré-adipócitos foi demonstrado que as citocinas inflamatórias, incluindo TNF- $\alpha$ , IL-1 e IL-6, também inibiam a diferenciação adipocitária *in vitro* [205,206].

Todos estes dados suportam um papel da terapia ARV na apoptose dos adipócitos, que será o resultado de uma disfunção mitocondrial e de uma superexpressão de citocinas que poderá mediar o papel dos antirretrovíricos, particularmente dos IP e INRT, na atrofia do tecido adiposo e na RI. Analisando a literatura, esta reporta um amplo espectro de valores para a incidência da lipodistrofia. Entre os 3% a 64% referidos inicialmente por Carr [44], aparecem depois valores intermédios: 13,1% para Lichtenstein [183,207], 20-27% para Currier [183], 20-25% nos estudos publicados por Girspoon e Carr [23,30], 30-50% para Behrens [208] e 48,7% para Bogner [209]. A amplitude dos resultados nos infetados reflete outras variáveis além da HAART que, a pouco e pouco, foram sendo consideradas para interpretação dessas diferenças. Atualmente a origem da lipodistrofia é considerada como um processo multifatorial [210-212]. O tempo de tratamento, os tratamentos prévios [207], as interações farmacológicas [24], a idade [213], o sexo [214], a raça [207,209,210] e o estado imunológico [211] são atualmente entendidos como determinantes.

## **4.2 Disglicemia associada à infeção por VIH e à terapia HAART**

A busca das fontes de energia, a constatação do seu desequilíbrio ou a suspeita do seu esgotamento sempre foram motivação para investigação e desenvolvimento. Por outro lado, a sua disputa já desencadeou grandes conflitos, senão mesmo guerras, a nível mundial.

A glicose, como fonte prioritária de energia do organismo, faz com que a disglicemia seja das alterações mais remotamente conhecidas e também das mais estudadas. Encontrámo-la no caminho de muitas outras doenças como causa ou fator de agravamento, ou então como consequência das mesmas ou dos seus tratamentos [215].

Algumas infeções víricas já foram relacionadas com os problemas auto-imunes associados à diabetes tipo 1, dada a redução dos níveis de insulina pelo dano das células beta quando o pâncreas também é infetado [216]. Por outro lado, dado o habitual tropismo dos vírus pelo fígado (ex. Hepatite C), é habitual e expectável que as hepatites

víricas provoquem ou coexistam com alterações no metabolismo da glicose, para além dos lípidos [217].

A infeção por VIH, ao contrário das infeções por citomegalovirus (CMV), enterovirus e parvovirus, não tem sido associada à diabetes mellitus (DM) tipo 1. Por outro lado, a sua comprovada ligação à dislipidemia, quer pela infeção, quer pelo tratamento (ou por ambas), transforma-a num grande suspeito para a DM tipo 2. [216]. Os estudos desenvolvidos mostram que os mecanismos de desregulação do metabolismo da glicose, e os defeitos associados à ação e secreção da insulina em pacientes infetados pelo VIH, são numerosos e complexos. A literatura tem-se concentrado principalmente em alterações do metabolismo dos lípidos, na inflamação e lipotoxicidade, indicando que estas duas conduzem à insulinoresistência, e esta por sua vez à disglícemia [52]. Os estudos conduzidos em infetados, na ausência de tratamento, concluem que o VIH *per si*, no seu processo de replicação em células T humanas, independentemente dos efeitos das drogas antivíricas, pode afetar o metabolismo dos lípidos e da glicose [51-53]. A intensa reação imunitária que se desenvolve após a infeção por VIH é mediada por fatores solúveis, tais como interferões e citocinas pró-inflamatórias [22]. Independentemente do agente iniciante, a RI e o processo inflamatório parecem afetar-se mutuamente, onde qualquer processo inflamatório crónico induz RI, e esta, por sua vez, alimenta o processo inflamatório [19,22].

A atividade dos genes acessórios do VIH-1 e as proteínas Vpr e Tat têm potencial para iniciar ou agravar a RI. Foi demonstrado que inibem a expressão do PPAR- $\gamma$ , induzindo lipotoxicidade e RI no tecido adiposo e no fígado. Provocam também a inibição da expressão da carboxiquinase fosfoenolpiruvato (PEPCK), o que iria facilitar a gliconeogénese e hiperglicemia de jejum [45,188,189,218]. A proteína Tat é conhecida por ativar o fator de transcrição nuclear kB (NF-kB), induzir a produção de TNF- $\alpha$ , bloquear a absorção dos AGL pelos adipócitos e promover a RI através do aumento da fosforilação da serina no substrato do recetor-1 da insulina (IRS-1) [52]. Em suporte a esta hipótese, estudos recentes têm demonstrado que indivíduos infetados pelo VIH, mesmo não tratados, têm níveis mais elevados de AGL circulantes e que estes se correlacionam positivamente com os níveis séricos de insulina e citocinas. Descrevem também que a sensibilidade à insulina é afetada por vários outros mecanismos, incluindo a lipodistrofia, a coinfeção por HCV [217] e a deficiência de hormona de crescimento [52].

Apesar de tudo, foi a introdução da terapia tripla de alta atividade que desencadeou mais relatos de diabetes no infetado por VIH e trouxe à luz as maiores investigações de risco cardiovascular associado [53,63,168,219,220]. A maioria das publicações associam



as alterações do metabolismo da glicose com distúrbios na sua absorção, devido a interferências dos fármacos com o transportador celular Glut-4 e/ou inibição da atividade do PPAR- $\gamma$  e redução da expressão do IRS-1) nos tecidos muscular e hepático [218].

Os INRTs têm sido referidos por acelerar o mecanismo patogénico da DM porque se suspeita que inibam a ADN polimerase- $\gamma$  conduzindo a disfunções mitocondriais [51,52,221-223].

O estudo por nós realizado sobre esta questão, cujos resultados se apresentam em capítulo próprio, deu origem ao artigo “Dysglycemia in HIV-infected patients”, submetido e em fase de revisão na revista *Diabetes Research and Clinical Practice* (ref<sup>a</sup> DIAB-D-13-00600).

## Capítulo 5.

### Inflamação e stresse oxidativo

Nas estruturas, atômica e molecular normais, os eletrões estão emparelhados. O processo de oxidação-redução desenvolve-se quando eletrões são removidos ou adicionados aos átomos. Na remoção diz-se que o átomo sofre oxidação e quando os eletrões são adicionados o átomo sofre redução. Qualquer espécie de átomos, com um ou mais eletrões não emparelhados, ocupando uma orbital atômica ou molecular isoladamente e com capacidade de existir independentemente de outras espécies, é designada por radical livre. Os radicais livres podem formar-se, entre outras vias, através da cisão homolítica, onde a quebra de ligações covalentes permite o desemparelhamento e a perda de um eletrão [224]. Esta singularidade confere-lhes instabilidade química e, por esta razão, os radicais livres tendem a interagir com outras moléculas na sua proximidade através da captação ou da cedência de eletrões. De salientar que os radicais livres, particularmente os de oxigénio (superóxido, radical hidroxilo), são altamente reativos [225].

A geração destes radicais é um processo fisiológico e contínuo, que visa cumprir requisitos biológicos relevantes, onde desempenham papéis fundamentais na produção de energia, na fagocitose e na regulação do crescimento celular. Estima-se que 5% de todo o oxigénio consumido pela respiração celular seja convertido em espécies reativas de oxigénio (ERO) [225]. Durante os processos metabólicos, no decorrer das várias reações bioquímicas, os radicais livres agem como mediadores na transferência de eletrões [243,244] e, em proporções adequadas, possibilitam a geração de adenosina trifosfato (ATP) através da cadeia transportadora de eletrões [226-228].

A mitocôndria cuja função é produzir energia (ATP), fundamental à atividade metabólica, produz radicais livres de oxigénio como uma consequência normal dessa mesma atividade [229,230]. A formação de radicais livres tem, também, origem na atividade normal de enzimas como a xantina oxidase, o citocromo P450, outras oxidases e monoaminoxidases, e está ainda associada a hábitos de vida como o tabagismo, à poluição ambiental e outras exposições tóxicas (como as radiações ionizantes e ultravioleta) [231,232]. Nas células musculares, os radicais livres, quando em baixas concentrações, exercem importantes funções, desde o aumento da permeabilidade ao  $\text{Ca}^{2+}$  e aumento da força durante a contração muscular [233].

A capacidade do SI para a esterilização do local de infecção através da produção rápida e coordenada de  $O_2^{\cdot-}$ ,  $H_2O_2$ ,  $^{\cdot}OH$ ,  $HOCl$  e  $ONOO^{\cdot-}$  pode garantir a sobrevivência do organismo [226,228]. Uma excessiva produção de ERO, via NADPH-oxidase, pode estar relacionada com uma hiperativação de leucócitos polimorfonucleares no processo de inativação de bactérias ou de outros agentes patogénicos [227,234,235].

Quando produzidos de uma forma descontrolada, originam uma resposta fisiológica, caracterizada por reações em cadeia, que lesam as células e promovem a sua autodestruição ou apoptose [224,228]. A apoptose dos linfócitos T CD4, alvo preferencial do VIH, não explica, por si só, o esgotamento dos mesmos no decorrer da infecção; no entanto, a evidência experimental apoia um papel fisiopatológico relativamente ao processo de autodestruição destas células durante a infecção VIH/SIDA. O stresse proliferativo e, conseqüentemente, o stresse oxidativo nos linfócitos T CD4 aumenta a expressão do recetor FAS/CD<sub>95</sub> que reage com o ligando FAS, também aumentado, formando um complexo que irá ativar o mecanismo de apoptose dos linfócitos T CD4, infetados ou não [236].

As ERO, ao reagir com as macromoléculas, podem degradá-las automaticamente ou dar início a uma série de reações onde o radical livre é transferido entre moléculas, originando a deterioração dos genes e, conseqüentemente, a formação de proteínas e enzimas não funcionais, bem como a alteração de algumas estruturas celulares, nomeadamente as membranas [237]. Podemos concluir, então, que elevadas concentrações de radicais livres podem originar danos nas estruturas do ADN e ARN, de proteínas e componentes lipídicos, originando alterações funcionais, processos degenerativos e patológicos, com prejuízo das funções vitais em diversos tecidos e órgãos, dentre os quais músculo esquelético, fígado, tecido adiposo, coração e cérebro [238].

As células dos mamíferos têm a capacidade de ativar mecanismos de proteção para combater este stresse oxidativo, numa primeira fase pela ativação de uma via específica de transdução de sinal. Este processo autoriza que a informação seja transmitida a partir do exterior de uma célula a vários elementos funcionais no interior da mesma [226,228], sendo ativado por sinais extracelulares, tais como hormonas, fatores de crescimento, citocinas e neurotransmissores. Estes controlam a transcrição de vários genes, que originam produtos importantes na resposta ao stresse oxidativo [226,228]. Os sistemas de defesa antioxidantes são compostos por outras moléculas que se opõem ao processo tóxico travando a cadeia de reações oxidativas que podem ser encontradas na fase lipídica, enquanto outras são hidrofílicas [239,240].

Os grupos antioxidantes são classificados em primários, secundários ou terciários, dependendo da sua função [231,232]. O primário caracteriza-se pela sua ação de prevenção, isto é, identifica-se pela proteção contra a formação da substância agressora, inibindo mecanismos de ativação. O secundário caracteriza-se pela interceção dos radicais livres, neutralizando a ação dos radicais já formados, e inibindo a cadeia de propagação; conta, essencialmente, com a presença de mecanismos reparadores: enzimas lipolíticas, fosfolípases, protéases e peptídates de ADN. Por último, o terciário – o processo de reparação, quando os processos de prevenção e interceção não foram completamente eficazes e os produtos da destruição dos radicais livres, continuamente formados, se acumulam no organismo, desempenha a sua função [227,241].

No primeiro grupo estão enzimas que protegem o organismo contra a formação de novos radicais livres. A defesa enzimática antioxidante é representada pela superóxido dismutase (SOD), pela catalase (CAT) e pela glutathione peroxidase (GPx). A SOD catalisa a dismutação do anião radical superóxido a peróxido de hidrogénio e oxigénio [239]. A hemoproteína CAT atua na decomposição do peróxido de hidrogénio a oxigénio e água. Por fim, a GPx desempenha um papel importante ao nível do metabolismo das ERO, catalisando a decomposição do peróxido de hidrogénio [59,225,242]. O segundo grupo de antioxidantes (hidrofílicos) inclui a vitamina C (ácido ascórbico) [243,244], o ácido úrico [245], a bilirrubina e a albumina [246].

A inflamação ocorre sempre que é necessário neutralizar ou eliminar um agente agressor. Assim, a infeção por VIH-1 e as infeções oportunistas concomitantes (por outros vírus, parasitas ou bactérias) originam uma permanente ativação imunológica de que resulta uma inflamação crónica. Os monócitos, macrófagos e células dendríticas são células imunitárias de grande importância, desempenhando um papel crucial no início da infeção pelo VIH, mas contribuem também, por outro lado, para a sua patogénese durante toda a infeção. Alguns monócitos infetados são recrutados para o trato gastrointestinal, onde posteriormente se transformam em macrófagos e dão origem a um reservatório vírico no intestino. Sabe-se que os macrófagos portadores do recetor CD4 e do correceptor CCR5 são alvos celulares iniciais do VIH [237].

As células dendríticas são, também, envolvidas na disseminação do vírus a seguir à infeção primária. Logo após ficarem infetadas com o VIH e no local da infeção, as células maduras migram para os gânglios linfáticos, onde desempenham uma função importante na transmissão do vírus para os linfócitos T CD4+. As células hematopoiéticas também têm sido propostas como um possível reservatório vírico, uma vez que a subprodução de células hematopoiéticas com o marcador CD34 expressam também as

moléculas CD4, CCR5 e/ou CXCR4, e estas células são suscetíveis de serem infectadas pelo VIH [247]. Todas estas células, particularmente as de maior longevidade, e os locais de difícil acesso farmacológico têm a capacidade de produzir e manter o vírus em replicação, mesmo que latente, por longos períodos de tempo [126,136].

A IL-1, a IL-6 e o TNF- $\alpha$ , exemplos de algumas citocinas fundamentais na iniciação da resposta imune, são as primeiras citocinas pró-inflamatórias produzidas por monócitos e outras células implicadas na imunidade celular [22,248]. A IL-1 $\beta$  e o TNF- $\alpha$  estimulam a produção de IL-6 e induzem a ativação transicional do gene NF- $\kappa$ B para a expressão de moléculas de adesão e citocinas. Por sua vez, o gene NF- $\kappa$ B participa na replicação do VIH por ativação da região promotora LTR [249,250]. O NF- $\kappa$ B parece exercer também uma importante função na regulação da cascata das citocinas, sendo ativado em diferentes tipos de células através de diversos estímulos, como endotoxinas, TNF- $\alpha$ , ERO e IL-1  $\beta$  [20,251,252].

A mecânica da persistência/latência vírica ainda não está esclarecida. No entanto, sabe-se que o gene NF- $\kappa$ B se encontra associado à capacidade de persistência do vírus nos macrófagos [126]. A ativação crónica dos monócitos, não só pelo VIH mas também por outros microrganismos que causam infeções oportunistas, provoca um aumento da produção de ERO que, por sua vez, modela e ativa fatores de transcrição, como o NF- $\kappa$ B, alimentando assim o processo replicativo do vírus [136,253]. O aumento do fator NF- $\kappa$ B parece ser consequência do aumento da degradação dos seus inibidores (I $\kappa$ B $\alpha$ , I $\kappa$ B $\beta$  e I $\kappa$ B $\epsilon$ ), permitindo por isso o aumento do fator NF- $\kappa$ B e o aumento da transcrição do vírus. Esta replicação é, por outro lado, negativamente controlada pelo aumento dos níveis de Bcl-2 (uma proteína anti-apoptótica), que diminui a replicação exagerada do vírus, mantendo-a em níveis sustentados e compatíveis com a sobrevivência da célula [254].

Qualquer célula infectada com VIH possui a capacidade de produzir ERO, mas esta está, como vem sendo descrito, particularmente aumentada com a ativação de fagócitos e neutrófilos. A tentativa do sistema de resolver a inflamação/infeção também aumenta o metabolismo e a respiração celular, com a concomitante produção de radicais livres. Há assim um aumento relevante de ERO, a nível local ou sistémico, durante a infeção crónica por VIH, com perturbação da defesa antioxidante e, consequentemente, com a disfunção das proteínas, ácidos nucleicos, hidratos de carbono e lípidos [255,256].

O stresse oxidativo tem sido associado como fator cooperante ao longo do curso da infeção por VIH, relacionado-se com muitos aspetos da patogénese da doença. São exemplo a replicação, a resposta inflamatória, a diminuição da proliferação de células imunitárias, a perda de função e a apoptose celular [37,257]. Relativamente à perda de

função celular, esta ocorre devido a alterações do fluxo iónico e de outras substâncias, o que origina uma perda de seletividade para a entrada/saída de nutrientes e substâncias tóxicas da célula, como consequência dos danos que ocorrem nos lípidos, proteínas e ADN [65].

Como também já foi referido, o excesso de ERO provoca modificações nas proteínas, como alterações nas estruturas (o que provoca fragmentação espontânea e aumento da suscetibilidade proteolítica) e perda da sua função. Relativamente ao ADN, este também sofre alterações devido ao stresse oxidativo, podendo estas alterações ser a nível estrutural, originando ruturas dos filamentos, e/ou modificações nos pares de bases [65]. Os fosfolípidos das membranas biológicas também são altamente sensíveis à oxidação [238,243]. A peroxidação lipídica induzida pelas ERO, particularmente ao nível dos fosfolípidos membranares e das LDL, pode desempenhar um papel na estimulação da replicação do VIH e na aterogénese que lhe parece estar associada [21,35,250,258].

Pacientes infetados com VIH assintomáticos, ou já numa fase mais avançada da infeção, demonstraram elevados níveis de stresse oxidativo, com alteração da atividade das enzimas GPx, CAT e SOD e redução do TAS (*status* antioxidante total) associadas a aumento dos metabolitos da peroxidação lipídica, aumento do malondialdeído e redução dos níveis de antioxidantes plasmáticos quando comparados com indivíduos controlo saudáveis [259-261].

## Capítulo 6.

### **Síndrome metabólico associado à infecção por VIH e à terapia HAART**

O diagnóstico do síndrome metabólico é hoje estabelecido quando o indivíduo apresenta três ou mais dos seguintes componentes: 1) intolerância à glicose com glicemia em jejum  $\geq 110$  mg/dL; 2) níveis de TG  $\geq 50$  mg/dL; 3) concentração de HDL  $< 40$  mg/dL para indivíduos do sexo masculino e  $< 50$  mg/dL para indivíduos do sexo feminino; 4) terapia anti-hipertensiva vigente ou pressão arterial  $\geq 130 \times 85$  mmHg; 5) obesidade abdominal ou maior quantidade de gordura visceral com perímetro da cintura  $> 102$  cm para homens e  $> 88$  cm para mulheres (segundo os critérios da NCEP/ATP III). A IDF considera intolerância à glicose para valores de glicemia de jejum  $\geq 100$  mg/dL e recomenda que o critério fixo seja obesidade abdominal ou maior quantidade de gordura visceral, com perímetro da cintura  $> 94$  cm para homens e  $> 80$  cm para mulheres [14,262,263]. Por último, a proposta de associações médicas internacionais (reflectida no *Joint Interim Statement*) sugere pontos de corte para obesidade e perímetro abdominal ajustados a distintos grupos étnicos, dada a diferente composição física e o risco de, conforme os critérios usados, se encontrarem valores diferentes para a mesma população [16,17].

A ligação entre o SM e a infecção por VIH é sugerida por diferentes vias. Como já foi descrito, há efeitos dislipidémicos devidos quer ao vírus quer à própria terapia de alta atividade (HAART), ou porventura a ambos. Por outro lado, a dislipidemia favorece a insulinoresistência e a DM, estando também provado que alguns fármacos causam dano oxidativo mitocondrial direto e interferem nas vias de sinalização da insulina (Capítulo 4).

Finalmente, o vírus, mesmo que latente, causa um estímulo imunológico constante no hospedeiro. A inflamação faz parte da resposta do hospedeiro imunocompetente a estímulos e condições nocivas, lesões ou mau funcionamento dos órgãos e tecidos, e também, particularmente, a estímulos desencadeados no SI pelos agentes infecciosos. Esta resposta, que se pretende rápida e eficaz, ativa uma série de eventos bioquímicos e celulares, que orquestrados entre si promovem a destruição, diluição ou encerramento do agente nocivo e também a cicatrização e reconstituição do tecido lesado. O processo envolve células do tecido conjuntivo e endotélio bem como células sanguíneas circulantes (neutrófilos, monócitos, linfócitos e plaquetas) e a ativação de recetores e

enzimas através de uma série de sinalizadores e mensageiros químicos, cuja ação é facilitada por uma intensa movimentação de fluidos [252].

O endotélio vascular desempenha um papel central na comunicação entre o foco inflamatório e os leucócitos circulantes, quer pela expressão de moléculas de adesão, que facilitam a migração tecidual de monócitos e neutrófilos, quer pela modificação do tônus vascular [264].

Independentemente da natureza do estímulo desencadeante, as células do sistema fagocítico iniciam a cascata de eventos da chamada “reação de fase aguda”. Os macrófagos são capazes de detetar os “sinais endógenos” de perigo presentes em restos celulares e em células necróticas através dos recetores tipo Toll-like (TLR), dos recetores de reconhecimento intracelular padrão (RRIP) e do recetor da interleucina 1 (IL-1R). Recrutados pelos locais de lesão celular, todos desempenham um papel fundamental no desenvolvimento do processo inflamatório mediante a libertação inicial de IL-1 e TNF- $\alpha$ . A IL-1 e o TNF- $\alpha$  são capazes de ativar localmente as células da matriz ou estroma tecidual, principalmente fibroblastos e células endoteliais, para produzirem seletinas, iniciando o processo de adesão. Elas são responsáveis pela expressão de moléculas de adesão leucocitária, pelas moléculas de adesão intercelular (ICAM-1), pelo aumento de substâncias quimiotáticas [(proteína quimiotática de monócitos-1 (MCP-1) e fator estimulador de colónias de macrófagos (M-CSF)], ambas amplificadoras da cascata inflamatória. Além disso, aumentam a expressão dos fatores de crescimento derivados de plaquetas (PDGF) e fator de crescimento de fibroblastos (FGF), associados com a progressão de processo aterosclerótico [265,266].

A MCP-1 recruta os leucócitos mononucleares para a camada íntima das artérias, os quais, por sua vez, segregam um terceiro conjunto de citocinas (incluindo o TNF- $\alpha$ ) e fatores quimiotáticos que retroalimentam o processo inflamatório. Tal como os macrófagos e os neutrófilos, as células teciduais lesadas libertam uma variedade de substâncias e enzimas criando stresse oxidativo; entre elas podemos incluir, principalmente, a bradicinina (que também participa da ativação da cascata da coagulação), a serotonina, produtos da cascata do ácido araquidónico, adenosina, histamina e neuropeptídeos, como a substância P. A substância P libertada produz desgranulação dos mastócitos, vasodilatação, aumento da permeabilidade vascular, aumento da produção e libertação de enzimas lisossómicas, libertação de prostaglandinas e de IL-1 e IL-6. Pode ainda estimular a síntese de óxido nítrico (NO) pelo endotélio vascular, causando vasodilatação e maior libertação de mediadores inflamatórios para os tecidos [267].



A migração dos leucócitos e a sua interação adesiva com o endotélio constitui um processo dinâmico envolvendo a ativação tanto do endotélio quanto deles próprios [264]. Em condições em que a capacidade homeostática local é superada ou pela magnitude do estímulo agressor ou pela insuficiência dos mecanismos reguladores, a resposta inflamatória extravasa os limites do seu microambiente e pode manifestar-se de modo sistêmico. Dependendo da quantidade de citocinas libertadas, pode ter consequências catastróficas, na forma de choque circulatório grave [22,230,248], ou então o processo torna-se contínuo, na forma de uma inflamação crônica, propiciando as condições para o desenvolvimento de uma série de transtornos metabólicos que compõem o SM [268].

A inflamação crônica parece ser o denominador comum da degenerescência celular, da apoptose, da RI e do início da aterogênese, tendo ainda a capacidade de alimentar a máquina replicativa do vírus pela indução das citocinas pró-inflamatórias. O ponto de ligação entre o SM e a inflamação será a RI, via por onde se influenciam mutuamente [20,21].

A IL-6 produzida por células endoteliais, células musculares lisas, monócitos e macrófagos, e especialmente segregada pelos adipócitos do tecido visceral, pode contribuir para o desenvolvimento da lesão aterosclerótica. É a principal citocina pró-coagulante, pois determina a produção e a elevação de fibrinogênio, proteína amiloide sérica A e PCR pelo fígado. Como citocina pró-inflamatória está envolvida no desenvolvimento da hiperinsulinemia e indiretamente no SM, pois desempenha uma função importante no metabolismo de hidratos de carbono e lípidos, por aumento da lipólise, com inibição da LPL, aumento da liberação de AGL e glicerol e redução da expressão de IRS-1 e GLUT-4 nos tecidos muscular e hepático. Foi também demonstrado que, em pessoas saudáveis, a IL-6 se correlaciona com todos os componentes do SM (glicemia, perímetro da cintura, concentrações séricas de TG e HDL, pressão arterial sistólica, pressão arterial diastólica), além da concentração sérica de insulina, índice de massa corporal (IMC) e marcadores inflamatórios, como a PCRus [26,27].

O TNF- $\alpha$  usa também o stresse oxidativo como segundo mensageiro [265]. No adipócito, desempenha um papel regulador na acumulação de gordura corporal, pela inibição da lipogênese, com diminuição da expressão de LPL, GLUT-4 e acetil-CoA sintetase, bem como pelo aumento da lipólise [269-272]. Em humanos obesos, há forte correlação inversa entre TNF- $\alpha$  e metabolismo da glicose. Esta redução de sensibilidade periférica à insulina ocasiona um aumento da glicogênese hepática e reduz a clearance de glicose pelo fígado e músculo esquelético, gerando um quadro de hiperinsulinemia.

Juntamente com a IL-6 determina o aumento de proteínas de fase aguda e promove a expressão endotelial de moléculas de adesão [169].

A IL-6 e o TNF- $\alpha$  cruzam-se no processo de stresse oxidativo mitocondrial na medida em que aumentam grandemente a taxa metabólica, com aumento da glicólise, gliconeogénese e lipólise, e assim, indiretamente, no desenvolvimento do SM [273].

A PCRus é uma proteína de fase aguda sintetizada pelo fígado, adipócitos e tecido endotelial vascular após um estímulo como lesão tecidual, inflamação e/ou infeção. A sua produção também ocorre nas lesões ateroscleróticas, por células musculares lisas e macrófagos [274]. Esta proteína ativa a via clássica do complemento e atua como uma opsonina na depuração de microrganismos [275]. Tem a sua expressão/secreção regulada por citocinas, predominantemente a IL-6 e o TNF- $\alpha$ , mas não é um mero marcador de atividade inflamatória, participando diretamente no processo de aterogénese e na modulação da função endotelial. Vários estudos prospectivos indicam um valor preditivo da PCRus (PCR ultrasensível) como marcador bioquímico para risco de doença cardiovascular superior aos dos tradicionais CT e LDL- colesterol [276,277]. Há ainda estudos que suportam a ideia que o seu valor preditivo e de prognóstico para a doença cardíaca é superior quer ao da Lp(a) quer ao da HCY [278]. Em 2003, uma diretriz conjunta dos CDC e da *American Heart Association* (AHA), de atualização e orientação para utilização clínica dos marcadores inflamatórios em doenças cardiovasculares, incluiu a PCRus na avaliação global de risco [279]. Atua como regulador da produção de NO no endotélio, inibe a transcrição da enzima sintase do óxido nítrico endotelial (ENOS) nas células endoteliais, desestabilizando o ARN mensageiro da ENOS, o qual leva a um decréscimo na libertação basal de NO. Coordena a produção e secreção de várias citocinas, aumentando a atividade pró-inflamatória, induz a expressão de várias moléculas da adesão intracelular (ICAM-1) e vascular (VCAM-1) e da MCP-1; estimula os monócitos a produzir o fator tecidual e citocinas pró-inflamatórias (IL-6 e TNF- $\alpha$ ) através da estimulação do NF- $\kappa$ B e promove a captação de colesterol pelos macrófagos [19,268,280]. Alguns estudos demonstram que indivíduos com SM apresentam concentrações plasmáticas de PCRus significativamente superiores aos dos indivíduos sem SM [281].

Em síntese, faz sentido acreditar que a relação do SM com infeção por VIH assenta na inflamação crónica e no stresse oxidativo celular daí resultantes [23,63-65], processo que pode ser minimizado pela robustez geral e do SI do hospedeiro. O mecanismo deste fenómeno e o conhecimento dos marcadores laboratoriais que façam prever – e

minimizar, através da prevenção – o SM em doentes infetados por HIV, com ou sem tratamento antirretrovírico, assume uma relevante importância [64,98].

## 6.1 Síndrome metabólica, nutrição e oligoelementos

A informação genética, a conjuntura hormonal, os fatores ambientais, como a dieta e o estado nutricional, têm consideráveis efeitos na imunidade e resistência à infeção, afetando a saúde e a progressão da doença. A nutrição tem sido reconhecida como um fator importante na evolução de infeções de diferentes etiologias, particularmente as de longo curso. Recorde-se a “velha” tuberculose [282-284], hoje renascida e tão fortemente associada à infeção pelo VIH. A desnutrição é um denominador comum e uma das mais importantes consequências de qualquer uma destas doenças [284-288]. Os avanços no tratamento, com a recuperação do SI destes doentes, travaram os números do chamado “*wasting syndrome*” nos países ditos desenvolvidos, mas o termo “*slim disease*” é ainda comumente usado em África como sinónimo para SIDA [288].

Por estes motivos a relação entre a infeção VIH/SIDA e a nutrição tem também atraído a atenção dos investigadores [261,282,289,290], sendo hoje consensualmente aceite como um dos principais determinantes do funcionamento do SI [282,291].

O desequilíbrio nutricional, com deficiência nos macronutrientes e/ou simples ou múltiplas baixas nos níveis de micronutrientes, é causado por uma alimentação deficiente, uma má-absorção gastrointestinal, um aumento do consumo energético (por aceleração metabólica) ou ainda por uma má redistribuição corporal, comuns na evolução da infeção natural por VIH [275]. O envolvimento dos micronutrientes na patogénese da infeção por VIH permanece ainda pouco claro, mas a deficiência de certos micronutrientes, e.g., Zn, Se e Cu, cofatores de enzimas antioxidantes, tem sido referida. Como consequência da sua presença em metaloenzimas com funções chave na resposta imunológica, parecem existir interações sinérgicas entre a nutrição, a infeção e a imunidade [292]. Os oligoelementos são parte do sistema de defesa imunológica do organismo e as suas alterações poderão ser induzidas pelas citocinas libertadas principalmente por macrófagos ativados, em resposta a uma infeção [293].

Desequilíbrios nutricionais também podem levar à alteração de proteínas de fase aguda (aumento principalmente da PCRus e diminuição da concentração de albumina) na inflamação aguda ou crónica. Foram observados aumentos de PCR em pacientes em

estádios avançados da infeção pelo VIH. Esta proteína ativa a via clássica do complemento e atua como uma opsonina na depuração de microrganismos [275].

A origem do SM, reconhecidamente multifatorial, inclui também as alterações metabólicas [294-297] e o esgotamento de antioxidantes [295]. Será fundamental manter um balanço nutricional apropriado, paralelamente à HAART, para o controlo da replicação vírica, recuperação do SI, redução da inflamação e do stresse oxidativo e manutenção do metabolismo normal de glicose e lípidos, já que aquela terapia (um compromisso de vida para estes doentes) veio somar mecanismos ao terreno já particularmente fértil para a instalação do SM no indivíduo infetado por VIH [210,298].

Apesar desta constatação, o estado nutricional, particularmente no que se refere aos micronutrientes antioxidantes, nas infeções está pouco documentado, embora vários estudos reportem a sua diminuição no decurso da doença, a sua relação com o stresse oxidativo [116,299] e as alterações no metabolismo dos ácidos gordos e da glicose [300]. Por exemplo, Karydi *et al.* e Ray *et al.* investigaram os níveis de retinol, vitamina A e Zn em doentes com tuberculose (TB) e concluíram não só que estes apresentam níveis mais baixos em comparação com a população saudável, mas também que os mais carenciados apresentam pior evolução. Concluíram que a suscetibilidade à TB não pode ser valorizada sem que se considere a micronutrição e que, particularmente, o Zn poderá ser um bom marcador, quer na avaliação da severidade da doença, quer da resposta à infeção [282,284].

A normal produção de anticorpos, a função das células fagocíticas e a função dos linfócitos T dependem da ingestão adequada de hidratos de carbono, proteínas, lípidos, minerais e vitaminas [298]. Certos nutrientes em particular parecem afetar a produção de anticorpos e a imunidade mediada por células, especialmente a função dos linfócitos T CD4 + [239,240,296].

O Zn é exigido como um ião catalítico, estrutural e de regulação para várias enzimas, proteínas e fatores de transcrição [15]. Para além das suas propriedades antioxidantes, o Zn também desempenha um papel na inflamação, principalmente através da sua intervenção na maturação dos linfócitos, na produção de citocinas e de radicais livres, na regulação da apoptose e na transcrição genética [301-303]. Participa na capacidade de resposta do SI como imunoestimulador [282,283,304] e é um elemento potenciador da ação da insulina. Como tal, desempenha um importante papel na defesa específica do hospedeiro e no metabolismo da glicose e dos lípidos [305-308].

As baixas concentrações de Zn no soro e uma relação Cu/Zn sérico elevada estão associadas às fases mais avançadas da doença [309]. Com o aumento de PCRus durante a resposta de fase aguda, os níveis plasmáticos de Zn diminuem como resultado da diminuição da proteína de transporte (albumina) e transferência para outros compartimentos do organismo [310].

O cobre (Cu) é um elemento metálico vestigial, essencial como cofator de várias enzimas, envolvido no metabolismo de todos os organismos vivos, desempenhando um papel catalisador importante na química de oxidação-redução. Está envolvido nos processos bioquímicos de produção de energia durante a respiração por ser essencial ao bom funcionamento da citocromo c oxidase [311]. É também importante na resposta imune, sendo crucial para a produção de interleucinas e para apoiar a atividade e a eficácia de imunidade, tanto humoral como celular [312,313].

O aumento dos níveis séricos de Cu está associado a alterações nutricionais, stresse oxidativo, inflamação e disfunção imune [312-314]. Durante a resposta da fase aguda, refletida por um aumento da PCRus, a concentração de Cu aumenta devido a um aumento da produção e libertação de ceruloplasmina, a principal proteína plasmática de transporte de Cu a partir do fígado, durante as condições inflamatórias [310]. Níveis de Cu excessivos podem fazer baixar significativamente a relação CD4/CD8 na circulação e a atividade das células NK [315].

Diversos estudos demonstraram que a concentração sérica de Cu, e especialmente a razão Cu/Zn do soro, aumentam com a progressão da doença VIH-1 e, portanto, podem ser usadas como um marcador de progressão da doença [304,309]. No entanto, esta constatação não é exclusiva para a infeção VIH-1: elevadas concentrações séricas de Cu foram relatadas noutras condições inflamatórias e doenças infecciosas, como a tuberculose [316].

O selénio (Se) é normalmente encontrado em quantidade significativa em tecidos como o fígado, o baço e os linfonodos, todos envolvidos na mediação do processo imunológico. A suplementação com Se, mesmo em indivíduos com níveis sanguíneos normais, parece desenvolver um efeito estimulante do SI, através da estimulação de células T ativadas (expansão clonal) [239,240]. Os vírus são capazes de sequestrar as reservas de Se do organismo humano, incorporando-o nas suas selenoproteínas, impedindo assim o hospedeiro de montar uma defesa eficaz. Talvez por isso a deficiência de Se provou estar relacionada com a ocorrência, virulência e progressão de algumas infeções víricas [261,317,318]. Baixos níveis de Se foram associados a um risco duas a seis vezes superior de cancro da próstata [253,319]. Outros estudos têm identificado

baixos níveis de Se em pacientes com enfarte agudo do miocárdio [160,320] e em pacientes com hepatite pelo VHB ou pelo VHC [320,321].

Em relação aos infetados por VIH, há estudos que apontam menores concentrações séricas de vários micronutrientes, incluindo o Se, o Zn e algumas vitaminas [161,262,322]. A deficiência de Se ([Se]  $\leq 85$  mg/L) foi também associada à diminuição da sobrevida em pacientes infetados com VIH [323] e a suplementação alimentar demonstrou benefícios clínicos, mesmo naqueles que não recebem HAART [262,291,324]. Foi também verificada a sua diminuição plasmática, em paralelo com a diminuição das células CD4. Investigação recente associa as deficiências em Se a uma maior atividade replicativa do VIH-1 e, assim, ao maior potencial de transmitir a infeção [261,318,325-329].

O manganês (Mn) desempenha um papel importante em muitos processos celulares, incluindo o metabolismo dos aminoácidos, lípidos, proteínas, hidratos de carbono e na função imunitária normal. A informação sobre os efeitos da deficiência de Mn no desenvolvimento imunológico é escassa. Embora limitados, os dados sugerem que níveis tóxicos deste oligoelemento poderiam prejudicar a função imune [330].

O Mn parece desempenhar um papel no ciclo de vida do VIH. Este elemento é necessário, como complexo catalítico ativo, na multimerização e montagem da integrase do VIH-1, uma enzima essencial para a sua replicação [331]. Por outro lado, níveis elevados de Mn parecem reduzir a atividade catalítica da RT, a enzima responsável pela cópia do material genético do vírus [332].

O ciclo vicioso que se desenvolve em pacientes VIH positivos subnutridos tem sido referido em muitos estudos, destacando-se em particular as deficiências em micronutrientes, deficiências essas que desencadeiam imunossupressão, com diminuída resposta ao stresse oxidativo, rápida depleção de células T CD4 e, conseqüentemente, pior evolução da infeção [261,290,333], com conseqüências significativas na morbilidade e mortalidade destes doentes [240,261].

As enzimas antioxidantes, para o seu funcionamento, dependem de alguns oligoelementos como cofatores. A Superóxido Dismutase (SOD) utiliza o Cu e o Zn (a enzima citoplasmática) ou o Mn (a enzima mitocondrial) [334], e a Glutathione Peroxidase (GPx) utiliza o Se [59]. A expressão de SOD é suprimida pela expressão da proteína tat, uma proteína do HIV importante para a eficaz replicação do vírus [335]. A deficiência de SOD pode contribuir para o estabelecimento e manutenção do stresse oxidativo e assim favorecer a replicação vírica nos indivíduos infetados pelo VIH.

Vishwanath Venketaraman *et al.* publicaram em 2005 os resultados de um estudo da avaliação do papel da GPx na imunidade à tuberculose num grupo de infectados por VIH. Comparando com indivíduos saudáveis concluíram que os níveis nos indivíduos infectados estavam diminuídos tanto nas células mononucleares como nos glóbulos rubros [336].

## **6.2 Síndrome metabólico, aterogénese e hiperhomocisteinemia**

A aterosclerose é uma condição crónica e silenciosa que progride de uma forma generalizada desde o início da vida. Ao lesar os vasos predispõe ao aparecimento de doenças vasculares, cardíacas, renais e cerebrais [337]. As evidências epidemiológicas apontam um desenvolvimento e evolução multifatorial, cujos fatores atuam de forma aditiva [338]. Os ateromas são lesões complexas que contêm elementos celulares, colagénio e lípidos, sendo o colesterol o principal constituinte. O colesterol tem origem nas lipoproteínas circulantes, sendo as mais aterogénicas as que contêm Apo B-100 (LDL, IDL, VLDL) [29,47]. Todos os fenómenos intervenientes na aterogénese (regulação vasomotora alterada, alteração do fenótipo antitrombótico, ativação e agregação plaquetária, ativação da elástase, deposição de cálcio na porção íntima, peroxidação dos lípidos das LDL) sugerem várias vias ou alterações, que se conjugam de forma a alterar a função endotelial, com todas as suas graves consequências [339].

A hipercolesterolemia, juntamente com a presença de células do SI nas paredes dos vasos, propicia o depósito de LDL no espaço subendotelial, particularmente quando há hipertensão. As LDL depositadas sofrem oxidação, induzida pelos radicais livres produzidos pelos macrófagos e células endoteliais ou pelas células do músculo liso, formando LDL oxidadas (LDL-ox) [340]. O endotélio sofre ação direta de fatores de risco, fumo de tabaco e hipertensão arterial, além da hipercolesterolemia e dos fatores de carácter hereditário [238]. Esta disfunção endotelial, com diminuição da resposta vasodilatadora, parece ser decorrente de problemas na síntese ou degradação (entre outras causas) do NO, regulador do tónus da célula muscular lisa, antitrombótico e antioxidante [238].

As LDL-ox funcionam como um autoantigénio, provocando a sua endocitose através de recetores de depuração nos macrófagos e nas células musculares lisas, os “*scavenger receptors*”, que reconhecem as LDL-ox mas não as LDL “nativas”. A ação desses recetores permite a acumulação excessiva de ésteres de colesterol no interior dos

macrófagos, levando à formação de “células espumosas” (*foam cells*), principais responsáveis pelo conteúdo em colesterol da placa de ateroma [341]

O endotélio ativado pelas LDL-ox produz fatores de crescimento, expressa moléculas de adesão (VCAM-1 e ICAM-1), integrinas e seletinas, permitindo que os monócitos e linfócitos, que migram do sangue periférico para o espaço subendotelial, possam aderir às células endoteliais [342].

A inflamação crônica na parede vascular é impulsionada por esses monócitos, macrófagos e linfócitos T que ativados produzem citocinas [340]. A secreção de citocinas, produção de anticorpos e outros mediadores da inflamação e agregação plaquetária são elementos que também contribuem para a placa ateromatosa. Concretamente, a secreção de TNF- $\alpha$ , IL-1 e IFN- $\gamma$  por células do SI ativadas estimula a proliferação das células musculares lisas e a síntese de colagénio, os quais agregam as células espumosas, completando a formação da placa [343].

Classicamente, como consenso resultante dos estudos de investigação nesta área, os fatores de desenvolvimento da aterosclerose são: níveis elevados de CT, LDL e LDL-ox [344], baixos níveis de HDL [345], presença de marcadores inflamatórios [252,340] e agregação plaquetária [346].

A comissão de especialistas para o tratamento das dislipidemias no adulto (*Adult Treatment Panel*) do *National Cholesterol Education Program* (NCEP), dos EUA, desenvolveu e emitiu até ao momento três guias de recomendação sobre monitorização e tratamento dessas dislipidemias. Segundo as recomendações do ATP III, as mais recentes e em vigor [347], emitidas em 2001 e atualizadas em 2004, a dislipidemia inclui os níveis plasmáticos de CT  $\geq 200$  mg/dL, colesterol LDL  $\geq 130$  mg/dL, TG  $\geq 150$  mg/dL, colesterol-HDL  $\geq 40$  mg/dL ou HDL  $\geq 60$  mg/dL [14].

A razão CT/HDL, não definida pelo NECP, foi posteriormente adotada com base em outros estudos para identificar os grupos de alto risco para doença cardiovascular. Serão considerados de alto risco valores da razão  $\geq 6,5$  [8].

A hiperhomocisteinemia (HHCY) tem sido reconhecida como um fator de risco independente para a doença isquémica do coração e acidente vascular cerebral (AVC) [348]. Já em 1968 se descreveram associações entre a HHCY (em doentes com defeitos genéticos homozigóticos com homocistenúria) e complicações aterotrombóticas de aparecimento precoce [349]. Os aumentos de HCY podem dever-se a deficiências genéticas no metabolismo, um padrão autossómico recessivo bastante raro mas que causa HHCY severa, por deficiências nutricionais (vitaminas B6, B12 e folato),



hipotireoidismo, alguns carcinomas e pela presença de alguns fármacos que inibem enzimas fundamentais do metabolismo (por exemplo, o metotrexato é um potente inibidor da folato-redutase) [339].

A HCY é um aminoácido sulfurado resultante do metabolismo normal da metionina que, por sua vez, desempenha um importante papel metabólico por, também ela, ser precursora de outros péptidos e proteínas, mas principalmente por participar em várias reações de transferência de grupos metilo. O seu metabolismo passa, fundamentalmente, por uma remetilação, onde se recupera a metionina (através da homocisteína metiltransferase ou metionina-sintetase) ou, por outra via, a transsulfuração, que permite a síntese de cisteína. Nestas vias intervêm derivados das vitaminas do complexo B12, B6 e ácido fólico pelo que, em muitos casos, se verifica uma relação inversa entre os níveis de HCY e estes compostos [264].

Além disso pode ser oxidada (duas moléculas de homocisteína formam uma dupla ligação entre dois átomos de enxofre, dando origem à homocistina), ou então forma essas pontes com outros compostos que contenham o grupo tiol e dá origem a uma variante conhecida como “homocisteína ligada a proteína”, que é a forma plasmática predominante. A forma não ligada é filtrada nos glomérulos e reabsorvida. Apesar de não ser eliminada pelo rim funcional, os seus níveis plasmáticos não são elevados dadas as vias de recuperação da metionina e de formação da cisteína [339].

O mecanismo exato da associação entre HHcy e aumento do risco de doença cardiovascular ainda é incerto. Resultados, aparentemente discordantes, sugerem que a relação entre os níveis de HCY e doença cardiovascular é mais complexa do que se pensava inicialmente. Numerosos estudos *in vitro* (com as conhecidas limitações de sobreposição à realidade humana) e algumas investigações clínicas têm tentado estabelecer a possível relação causa-efeito entre a aterogénese e a HHcy. Evidenciam-se os efeitos da lesão oxidativa provocados pela produção de potentes ERO, incluindo o radical superóxido e o peróxido de hidrogénio, durante a auto-oxidação da HCY [224].

O radical hidróxilo está particularmente envolvido na toxicidade vascular da HHcy, promovendo a peroxidação lipídica, ajudado pela própria HCY, que suprime a expressão da GPx pelas células endoteliais [264]. A HCY é rapidamente auto-oxidada quando libertada no plasma, formando homocistina, dissulfitos mistos e homocisteína tiolactona. A HCY tiolactona ao combinar-se com as LDL forma agregados que são fagocitados pelos macrófagos da camada íntima e incorporados nas células. Há ativação da elastase e aumento do depósito de cálcio nas placas de ateroma [350], sendo também sugerido que a HCY pode utilizar o sistema de transporte de cisteína para entrar nas células

endoteliais da aorta humana, as quais têm uma capacidade limitada para a catabolizar, o que contribui para a disfunção e dano destas células, bem como para a produção defeituosa de proteínas, pela depleção dos níveis de cisteína. As ERO derivadas da HCY ativam o NF-kB, contribuindo para alimentar o ciclo replicativo do vírus [126].

Em culturas de células endoteliais aórticas verificou-se também um efeito sobre a atividade da colagénase que ocorre na matriz extracelular da parede vascular com a estimulação da expressão da MCP-1 quando as concentrações de HCY são da ordem de 10 a 50  $\mu\text{mol/L}$ , o que aponta mecanismos fisiopatológicos de natureza inflamatória [351].

A produção de NO pelo endotélio vascular é também adversamente afetada pela HCY. O endotélio normal detoxifica a HCY por libertar o NO, o qual se combina com a HCY na presença de oxigénio para formar a S-nitroso-homocisteína, inibindo a produção de peróxido de hidrogénio. A S-nitrosohomocisteína é um potente vasodilatador e inibidor plaquetário. Esse efeito protetor do NO é eventualmente comprometido a longo prazo pela exposição à HCY, lesando o endotélio vascular, limitando a sua produção e diminuindo a sua biodisponibilidade [264].

Independente da natureza da relação e sua causalidade, é evidente que a HHCY está associada com a doença vascular. A magnitude da associação é aproximadamente equivalente à do consumo de tabaco ou à hiperlipidemia [352]. A HHCY tem sido associada com a hipertensão e (em menor grau) com a RI [352,353]. A suplementação com ácido fólico, vitamina B6 e B12, associados a uma diminuição dos níveis de HCY, resultou numa menor incidência de eventos cardiovasculares em pacientes com doença vascular identificada [354].

Na era da terapia ARV combinada, muitos estudos epidemiológicos têm documentado taxas mais elevadas de doença arterial coronária ou enfarte do miocárdio entre os infetados pelo VIH em relação à população em geral. Está claramente demonstrado que a exposição à terapia antirretrovírica se associa a um aumento da incidência de aterosclerose. Embora a terapia ARV possa interferir direta ou indiretamente, os fatores de risco tradicionais são provavelmente os que contribuem mais significativamente [196].

O estudo intitulado *The Data Collection on Adverse Events of Anti-HIV Drugs* (D:A:D) permitiu constatar que, entre indivíduos infetados, mesmo após o ajuste para alterações lipídicas, se verifica um aumento do risco de enfarte do miocárdio, particularmente com o uso dos fármacos IP [196]. A infeção pelo VIH pode também alterar os fatores de risco não tradicionais ou emergentes para doença arterial coronária,

incluindo os já referidos marcadores inflamatórios, fatores de coagulação, apolipoproteínas, lipoproteína-a (Lp(a)), stresse oxidativo, ácidos gordos não esterificados e HCY [355].

A avaliação do risco cardiovascular em doentes com VIH é muito importante de modo a orientar/personalizar as intervenções terapêuticas para indivíduos com risco mais elevado. A equação de Framingham e as tabelas de *scores* usadas para prever o risco na população geral não foram ainda validadas para os indivíduos infetados, e tudo indica que subestimem o risco efetivo desta população [356].

Em síntese, as determinações da HCY em combinação com as ferramentas de previsão atualmente disponíveis podem proporcionar uma mais-valia no cálculo do risco para essa população. O efeito da HHCY na patogénese da infeção pelo VIH não tem sido claramente identificado. Uma variedade de processos fisiopatológicos poderá contribuir para o seu aumento, incluindo os efeitos de infeção pelo VIH e a sua replicação, os fármacos antirretrovíricos, outros medicamentos administrados aos pacientes infetados, bem como os níveis de folato e/ou vitaminas do grupo B. Apesar dos resultados contraditórios [352,357] algumas evidências sugerem que há uma prevalência de HHCY leve a moderada em indivíduos infetados pelo VIH, especialmente nos submetidos à HAART [358].

## Capítulo 7.

### Métodos

Na sequência do estudo realizado anteriormente, em que se avaliaram as alterações do perfil lipídico pela terapia antirretrovírica em indivíduos infetados por VIH no Hospital de Joaquim Urbano, na cidade do Porto, foi solicitada à Comissão de Ética daquele hospital autorização para prosseguir e alargar o estudo com o objetivo de determinar a prevalência do síndrome metabólico (SM) e a relação deste com a infeção por VIH. O parecer da Comissão de Ética foi positivo para a realização do trabalho, o qual resultou nesta tese de doutoramento (Anexo 3).

Recolheram-se amostras de sangue em jejum, nos doentes infetados, com ou sem terapia, durante os anos 2010, 2011 e 2012, na mesma ocasião em que eram colhidas amostras para o seu acompanhamento de rotina naquele hospital. Os doentes tomaram conhecimento do âmbito da investigação e autorizaram a colheita de mais dois tubos de sangue (Anexo 4).

Numa primeira fase, no primeiro grupo de 173 doentes infetados escolhidos entre os que faziam terapia há mais tempo, determinaram-se os parâmetros laboratoriais do perfil lipídico e glicémico e a insulina. Calculou-se o índice HOMA (*homeostatic model assessment*) que permite uma estimativa da sensibilidade (resistência) à insulina e considerou-se existir insulinoresistência quando o índice HOMA (IH) fosse  $\geq 3$  [359]. Destes 173 doentes, 59 nunca tinham experimentado qualquer tipo de tratamento (grupo HAART-naïve) e estavam infetados há pelo menos 3 anos, 61 estavam a ser tratados com a combinação INRT + IP e 53 com a combinação INRT + INNRT. Os resultados foram comparados entre os grupos e, em cada grupo, com os valores no momento do diagnóstico em arquivo, ou seja, sem qualquer terapêutica e, supostamente, no início da infeção. Esta comparação de valores com o início da infeção permitiu avaliar as alterações do perfil lipídico e glicémico no decurso da infeção e de, pelo menos, três anos de terapêutica sustentada.

Numa segunda fase, com uma segunda amostra de 80 doentes, para além do perfil lipídico, do perfil glicémico e da insulina, pretendeu-se avaliar o estado inflamatório e o *status* antioxidante, através medição da interleucina-6 (IL-6), da proteína C reativa ultrasensível (PCRus), da capacidade antioxidante total (TAS) e dos oligoelementos

selênio (Se), cobre (Cu), zinco (Zn) e manganês (Mn), cofatores de enzimas antioxidantes.

Para prever o risco de afeção cardiovascular mediu-se também a homocisteína (HCY). O ácido fólico, cujos valores não são apresentados, foi também quantificado por se relacionar inversamente com os valores da HCY. Os valores médios encontrados não se afastavam dos descritos para a população em geral. Os doseamentos das vitaminas do grupo B não foram realizados porque obrigavam a um tratamento imediato das amostras ou uma preservação especial, o que não se conseguiu garantir.

Paralelamente à investigação laboratorial recolheram-se alguns dados dos processos clínicos em arquivo: os valores de carga vírica (CV) e CD4 (determinados pelo Hospital no mesmo momento da recolha de sangue), os registos sobre eventuais coinfeções, a presença ou não de lipodistrofia. Foi também recolhida informação sobre as terapias em curso (antirretrovírica, antilipidemiante, antidiabética e anti-hipertensiva), o perímetro abdominal, o índice de massa corporal (IMC) e toda a restante informação necessária à caracterização demográfica da amostra.

No final destes 4 anos de investigação reuniram-se resultados analíticos e clínicos de 266 doentes. Para determinar a prevalência do SM usaram-se os critérios da *National Cholesterol Education Program / Adult Treatment Panel III* (NCEP/ATP III), ou seja, considerou-se existir SM quando três ou mais das seguintes condições se reuniam no mesmo indivíduo: 1) intolerância à glicose com glicemia em jejum  $\geq 110$  mg/dL; 2) obesidade abdominal ou aumentada quantidade de gordura visceral com perímetro da cintura  $>102$  cm para indivíduos do sexo masculino e  $>88$  cm para indivíduos do sexo feminino; 3) concentração de triglicérides (TG)  $\geq 150$  mg/dL; 4) colesterol-HDL  $<40$  mg/dL para indivíduos do sexo masculino e  $<50$  mg/dL para indivíduos do sexo feminino; 5) terapia anti-hipertensiva vigente ou pressão arterial  $\geq 130 \times 85$  mmHg.

A dificuldade na obtenção de dados e/ou ausência de informação clínica no que respeita aos dados antropométricos e às outras terapias que não a HAART, particularmente nos primeiros anos e naqueles que não faziam terapia ARV (com maior abstenção às consultas), não permitiu classificar cerca de 25% dos doentes quanto ao SM.

Todas as análises do perfil lipídico, glicémico, insulina, homocisteína e TAS foram realizadas com *kits* comerciais certificados, recorrendo ao analisador automático de bioquímica e imunoensaios (sistema integrado) ARCHITECT® ci8200, da Abbott Diagnostics. O CT foi doseado pelo método enzimático que envolve a colesterol esterase

e a colesterol oxidase, os TG pelo método enzimático que envolve a glicerol-3-fosfato oxidase, o HDL pelo método acelerador-detergente seletivo; o LDL foi calculado pela fórmula de Friedewald-Levy-Fredrickson, quando aplicável; a glicose pelo método enzimático da hexocinase/glucose-6-fosfato desidrogenase; a PCRus por um método imunoturbidimétrico, a insulina por quimioluminescência e a HCY por imunoensaio de fluorescência polarizada (FPIA). Todos estes *kits* eram da Abbott Diagnostics.

O TAS foi doseado no plasma com o *kit* comercial dos Randox Laboratories (UK), de acordo com Miller *et al.* [360], adaptado ao referido analisador automático ARCHITECT® ci8200, da Abbott.

A interleucina 6 (IL-6) foi doseada recorrendo a um método de eletroquimioluminescência da Roche Diagnóstica, automaticamente realizado no equipamento ELECSYS® 2010. Os oligoelementos foram determinados no sangue total por espectrometria de plasma-massa (ICP-MS).

Para todas as determinações seguiram-se as instruções dos fabricantes e realizou-se um rigoroso controlo de qualidade, analisando pelo menos duas amostras de controlo (dois níveis de concentração) em simultâneo com as amostras dos pacientes.

### **Análise estatística**

A análise estatística dos dados foi efetuada utilizando o programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS®) v.15.0. Em todos os testes, considerou-se haver significância para  $p < 0,05$ .

As variáveis categóricas foram descritas através de frequências absolutas (n) e relativas (%). As variáveis quantitativas foram descritas através de média e respetivo desvio padrão ou média e intervalo de confiança (IC 95%), se apresentavam uma distribuição normal, ou através da mediana e respetivos percentis 25 e 75, para além do mínimo e máximo, no caso contrário.

A comparação de 2 medidas de tendência central de variáveis quantitativas foi realizada através de testes *t* (variáveis com distribuição normal) ou de testes de Mann-Whitney (variáveis não normalmente distribuídas). A comparação de mais de 2 medidas de tendência central de variáveis quantitativas foi realizada através de ANOVA (distribuição normal) ou de testes de Kruskal-Wallis (distribuição não normal), sendo as comparações analisadas *a posteriori*, quando detetadas diferenças significativas, pelos

testes de Scheffe ou de Tukey, ou de Mann-Whitney (variáveis não normalmente distribuídas).

Para avaliar a alteração dos valores analíticos de parâmetros do perfil lipídico e do perfil glicémico pelas variáveis em causa foram aplicados modelos multivariados de equações de estimação generalizadas (EEG), assumindo uma evolução linear no tempo. As EEG são um método que permite analisar medidas repetidas ou longitudinais, tendo em conta que as medições no mesmo indivíduo ao longo do tempo estão correlacionadas. A vantagem deste método é que fornece estimativas consistentes dos parâmetros associados às covariáveis do modelo, mesmo que a estrutura de correlação assumida esteja errada. No entanto, devido à existência de covariáveis dependentes do tempo (por exemplo, o regime de tratamento para um indivíduo podia-se alterar ao longo do tempo de seguimento), esta última propriedade pode não ser verificada. Seguindo as recomendações de Pepe e Anderson [361], assumiu-se uma matriz de correlação independente na estimação dos parâmetros dos modelos.

A análise univariada de fatores (variáveis) associados a TG >150 mg/dL, glicose >110 mg/dL, HCY >14  $\mu$ mol/L e SM, por exemplo, foi realizada através de testes de qui-quadrado. As análises multivariáveis de fatores associados aos mesmos riscos (glicose >110 mg/dL ou homocisteína >14  $\mu$ mol/L, ou ter ou não SM, por exemplo) foi realizada através de regressões logísticas multivariável, passo a passo regressivo, pelo método de Wald, com  $p = 0,05$  como fator de inclusão e 0,20 como fator de exclusão. Posteriormente a validade dos modelos obtidos foi verificada através dos coeficientes de determinação de Cox e Snell e de Nagelkerke, assim como do teste de Hosmer e Lemeshow. Adicionalmente foi calculada a área sob a curva *receiver operating characteristic* (ROC).

## Capítulo 8.

### Resultados e discussão

#### 8.1 Perfil lipídico

##### 8.1.1 Resultados

As características da amostra analisada para estudo da evolução do perfil lipídico e glicémico após terapia estão indicadas na Tabela 5. Foram estudados 173 doentes infetados com VIH, predominantemente homens de raça caucasiana. Formaram o grupo de controlo para a terapia, 59 indivíduos, por não terem experimentado qualquer tipo de tratamento (grupo HAART-naïve). Nos restantes doentes, 61 estavam a ser tratados com a combinação INRT + IP e 53 com a combinação INRT + INNRT.

A comparação entre os grupos de doentes tratados e os HAART-naïve não revela diferenças significativas em relação à coinfeção com os vírus B e/ou C. Pelo contrário, eram estatisticamente significativas as diferenças na idade ( $p=0,000$ ), sexo ( $p=0,038$ ), ano de diagnóstico ( $p=0,000$ ), IMC ( $p=0,015$ ), presença de casos de SIDA ( $p=0,000$ ), lipodistrofia ( $p=0,000$ ). Apesar de todos os grupos serem maioritariamente masculinos, o grupo de controlo, diagnosticado alguns anos mais tarde, tinha mais indivíduos do sexo feminino.

No que se refere aos marcadores de infeção, verificaram-se diferenças com significado estatístico na carga vírica ( $p=0,000$ ), e contagem de linfócitos T CD4+ ( $p=0,000$ ). A CV inicial era, naturalmente, maior no grupo agora em tratamento e, ao contrário, a contagem de CD4 de início era superior no grupo que ainda não tinha necessitado de terapia. Os casos de SIDA concentravam-se todos no grupo em tratamento.

Quanto ao perfil lipídico (Tabela 6), não se observou qualquer diferença com significado estatístico entre os grupos, apesar de se verificar que nos grupos em tratamento todos os parâmetros do perfil lipídico sofreram um aumento de valores relativamente ao início do tratamento. Registou-se um aumento médio de 7,8% nos valores de CT; 11,0% nos valores de LDL; 18,2% nos TG e 4,7% no HDL. Os maiores aumentos de LDL e TG encontram-se no grupo tratado com IP. No caso do HDL os valores mais elevados ao fim destes anos de terapia encontravam-se quase



exclusivamente no grupo INNRT. No grupo *naïve* todos os valores diminuíram, embora ligeiramente, exceto no HDL, que permaneceu sensivelmente igual.

Tabela 5. Caracterização da população estudada (INRT+INNRT, INRT+IP e HAART-naïve)

Variável	INRT+INNRT (n=53)	INRT+IP (n=61)	HAART-naïve (n=59)	p
Gênero Masculino, n (%)	41 (77,4)	50 (82,0)	39 (66,1)*	0,038 <sup>1</sup>
Idade (fim de <i>follow-up</i> ), Me (AIQ)	43,0 (36,5-52,0)	43,0 (37,0-53,0)	34,0 (29,0-44,0)*	0,000 <sup>§</sup>
Ano de diagnóstico, Me (AIQ)	2001 (1998-2004)	2000 (1998-2004)	2007* (2007-2008)	0,000
Tempo <i>follow-up</i> (anos), Me (AIQ)	10,0 (6,0-13,5)	10,0 (4,5-14,0)	3,0 (3,0-3,0)	
Raça: Caucasiana	53 (100)	61 (100)	59 (100)	
IMC, n (%)				
Baixo peso (<18,5)	20 (37,7)	1 (1,6)	6 (10,2)	0,015 <sup>1</sup>
Peso normal (18,5–24,9)	12 (22,6)	26 (42,6)	15 (25,4)	
Peso elevado (25,0–29,9)	13 (24,5)	17 (27,9)	13 (22,0)	
Obesidade (≥30,0)	4 (7,5)	5 (8,2)	3 (5,1)	
Dados em falta	4 (7,5)	12 (19,7)	22 (37,3)	
Lipodistrofia, n (%)				
Sim	19 (35,8)	19 (31,1)	9 (15,3)*	0,000 <sup>1</sup>
Não	27 (50,9)	27 (44,3)	47 (79,7)*	
Dados em falta	7 (13,2)	15 (24,6)	3 (5,1)*	
SIDA, n (%)				
Sim	20 (37,7)	36 (59,0)	0 (0)	0,000 <sup>1</sup>
Não	31 (58,5)	23 (37,7)	56 (94,9)	
Dados em falta	2 (3,8)	2 (3,3)	3 (5,1)	
Hepatite C ou B coinfeção, n (%)	18 (34,0)	24 (39,9)	1 (1,7)	0,109 <sup>1</sup>
Carga vírica (10 <sup>3</sup> cópias ARN/mL), Me (AIQ)	36,1 (7,9-106,8)	57,9 (18,5-201,0)	9,7* (1,8-17,2)	0,000 <sup>§</sup>
Início	0,02 (0,01-0,04)	0,02 (0,02-0,05)	12,5* (3,4-32,2)	0,000 <sup>§</sup>
Fim de <i>follow-up</i> CD4+ (cel/mm <sup>3</sup> ), Me (AIQ)				
Início	346 (138-466)	165 (58-406)	584* (465-755)	0,000 <sup>§</sup>
Fim de <i>follow-up</i>	505 (313-664)	453 (237-681)	482 (373-579)	0,666 <sup>§</sup>

n (%): número (percentagem); Med (AIQ): mediana (amplitude inter-quartil); HAART: *Highly Activity Anti-Retroviral Therapy*; INRT: Inibidores Nucleosídeos da Transcriptase Reversa, IMC: Índice Massa Corporal; INNRT: Inibidores Não Nucleosídeos da Transcriptase Reversa; IP: Inibidores da Protéase; 1: Teste de independência qui-quadrado; §: teste Kruskal-Wallis, \*valores significativamente diferentes.

Tabela 6. Comparação do perfil lipídico pré e pós-terapia

	Pré-terapia	Pós-terapia	p
<b>Colesterol total (mg/dL)</b>			
INRT+INNRT	174,3±50,3	189,5±44,8	0,192
INRT+IP	172,7±38,7	184,6±39,6	0,181
HAART-naïve	166,6±19,5	156,3±18,3	0,329
<b>HDL (mg/dL)</b>			
INRT+INNRT	43,3±15,0	46,9±15,5	0,326
INRT+IP	45,5±14,0	46,0±14,4	0,498
HAART-naïve	44,4±15,2	45,0±19,0	0,951
<b>LDL (mg/dL)</b>			
INRT+INNRT	111,3±44,7	119,8±39,7	0,448
INRT+IP	101,8±33,7	116,5±38,4	0,174
HAART-naïve	103,8±16,8	91,2±31,4	0,489
<b>Triglicerídeos (mg/dL)</b>			
INRT+INNRT	138,3±86,6	153,7±108,5	0,502
INRT+IP	147,5±77,2	174,7±72,0	0,108
HAART-naïve	137,0±93,6	119,1±35,0	0,647

INRT: Inibidores Nucleosídeos da Transcriptase Reversa; INNRT: Inibidores Não Nucleosídeos da Transcriptase Reversa; IP: Inibidores da Protéase; HAART: *Highly Activity Anti-Retroviral Therapy*; HAART-naïve: Sem tratamento HAART; Teste *t* de Student para amostras independentes.

### 8.1.2 Discussão

Após o controlo da replicação vírica, o perfil lipídico e a lipodistrofia foram alvo de muita investigação, dado que o seu padrão se alterou desde o início da infeção e se associou aos fármacos ARV, particularmente nas terapias combinadas de alta eficácia que envolviam IP. Essa alteração desfavorável, do ponto de vista aterogénico, constituía mais um desafio para a sobrevivência a longo prazo dos infetados pelo VIH, já que os colocava em risco de desenvolver SM, doenças cardiovasculares e diabetes mellitus.

Identificaram-se os fármacos desse ponto de vista menos agressivos e fizeram-se alterações terapêuticas para grupos e/ou moléculas mais favoráveis. Em 2000 e 2003 foram publicadas orientações particulares para a monitorização da dislipidemia em infetados sob terapia [115,174]. As atuais recomendações de *Adult AIDS Clinical Trials Group* (AACTG) seguem as últimas diretrizes do *National Cholesterol Education Program* (NCEP). Estas encorajam à prática de exercício físico e a uma dieta adequada, visando a diminuição dos níveis de lípidos, com tratamento particularizado, tal como é norma para a população em geral [198].

Esta atitude consertada fez com que nos últimos cinco anos o tema dislipidemia já não fosse tão prevalente em termos de número de publicações, e os resultados estão

longe dos encontrados nos dez anos seguintes à introdução da HAART. Da revisão bibliográfica que consta do nosso estudo anterior [362] pode verificar-se que nos anos 1999, 2000, 2001 e 2002 os autores referiam aumentos de TG que podiam atingir os 71%, e 47% no CT. Nos anos seguintes (2003, 2004, 2005 e 2006) os estudos publicados já só referiam máximos de 54% e 45% para TG e CT, respetivamente. No nosso estudo, cuja amostra foi recolhida em 2007 e 2008, os resultados apresentavam um aumento de 29% no CT ( $p < 0,001$ ), 9% no LDL ( $p = 0,012$ ), 17% nos TG ( $p = 0,002$ ) e 46% no colesterol-HDL ( $p < 0,001$ ) após um mínimo de três anos de HAART. Agora, sem nenhuma diferença significativa relativamente ao grupo de controlo, apenas se registou um aumento médio de 7,8% nos valores de CT; 11,0% nos valores de LDL; 18,2% nos TG e 4,7% no HDL, o que está de acordo com a nova realidade. Hoje, os valores publicados são substancialmente mais baixos e não apresentam associação significativa com a terapêutica [363,364]. Os que registam valores mais elevados referem-se a populações e áreas geográficas mais pobres, onde os recursos terapêuticos são remotos e, possivelmente, não se pratica o tratamento paralelo das alterações metabólicas [365,366].

Os resultados aqui discutidos estão em consonância com a nova realidade, sem diferenças significativas entre os grupos em tratamento e o grupo *naïve*. Contudo, os maiores aumentos de LDL e TG continuam associados ao grupo tratado com IP e os de HDL, tal como anteriormente, ao grupo INNRT, mas agora sem diferença significativa. No grupo *naïve*, ao fim de três anos todos os valores baixaram, embora ligeiramente, exceto o HDL, que permaneceu sensivelmente igual. Como seria de esperar [154], após o tratamento verificaram-se níveis inferiores de CV e aumento das contagens de linfócitos CD4.

É nossa convicção e da maioria dos autores que, para este efeito na dislipidemia, concorrem a melhoria do estado geral, com recuperação do SI, a descoberta de novas moléculas menos tóxicas e/ou a alteração de alguns esquemas terapêuticos com IP para INNRT, sem compromisso da eficácia [211,362,367]. Além disso e não menos importante, com as novas orientações os indivíduos infetados por VIH são tratados para a dislipidemia tal como a população geral. Por outro lado, os próprios doentes na sua maioria já não pertencem às chamadas “franjas da sociedade”, e adotam, voluntariamente ou orientados pelos seus médicos, uma mudança de hábitos de vida, com a prática de exercício físico e uma dieta apropriada.

A caracterização da amostra revela que existem mais casos de lipodistrofia nos doentes em tratamento, o que está de acordo com algumas publicações que associam a

ocorrência de lipodistrofia à HAART [153]. Por outro lado, segundo alguns autores a replicação do VIH por si só, independentemente dos efeitos dos tratamentos ARV, com o stresse oxidativo gerado e a inflamação, pode afetar o metabolismo de lípidos e causar apoptose dos adipócitos, modificando a distribuição da gordura, o que explicaria os casos de lipodistrofia nos pacientes não tratados [52,64]. Na nossa opinião, esse fenómeno conjuga os dois efeitos, que talvez sejam sinérgicos, pois também encontramos casos de lipodistrofia no grupo de indivíduos não tratados.

## 8.2 Perfil glicémico

### 8.2.1 Resultados

Em relação aos níveis de glicose (Tabela 7), não se identificaram diferenças entre os 3 grupos no período de *follow-up*. Contudo, os resultados do grupo naïve e os dos pacientes tratados com INNRT permaneceram semelhantes, observando-se uma diferença positiva de 8,5% no início e fim do *follow-up* no grupo tratado com INRT+IP. Do mesmo modo, o índice HOMA (IM) foi significativamente menor nos grupos naïve e tratado com INNRT quando comparados com o grupo INRT+IP ( $p=0,039$ ), que apresenta um maior número de casos com RI (15%).

Os resultados do modelo EEG apresentados na Tabela 8 revelam que a obesidade, a coinfeção com os vírus das hepatites B e C e a idade são os preditores com maior significado do aumento de glicose nos indivíduos infetados pelo VIH. Os indivíduos obesos (IMC  $>30,0$ ) apresentam também valores de glicose cerca de 15,4 mg/dL mais elevados quando comparados com os de peso normal ( $p=0,018$ ). Os indivíduos coinfetados apresentam também valores mais elevados em 13,8 mg/dL ( $p=0,032$ ) e, por cada ano de idade, prevê-se um aumento de 0,59 mg/dL nos valores de glicose ( $p=0,001$ ). A carga vírica plasmática ( $\beta$ :  $-4.1 \times 10^{-6}$ ;  $p=0,003$ ) e a contagem de CD4 ( $\beta$ :  $-0.016$ ;  $p=0,041$ ), o que está de acordo com muitos resultados já publicados [61,148,155,156,221].

Tabela 7. Perfil glicêmico e índice de HOMA (IH) antes e após o *follow-up*

Terapêutica	Glicose (mg/dL)			IH		
	Início (med±DP)	(med±DP)	p	(med±DP)	p	IH>3, n (%)
<b>INRT+INNRT</b>	89,7±20,6	90,6±20,0	0,786 <sup>b</sup>	1,5±0,8	0,039 <sup>a</sup>	2 (4,1)
<b>INRT+IP</b>	91,1±12,8	98,8±35,6	0,173 <sup>b</sup>	2,1±1,8		9 (15,5)
<b>HAART-naïve</b>	88,1±12,0	87,5±8,9	0,422 <sup>b</sup>	1,5±0,7		2 (4,0)

INRT: Inibidores da Transcriptase Reversa; INNRT: Inibidores Não Nucleosídeos da Transcriptase Reversa; IP: Inibidores da protease; HAART: *Highly Activity Anti-Retroviral Therapy*; HAART-naïve: Sem tratamento HAART; med±DP: média±desvio padrão; IH: Índice HOMA; a: t-teste para amostras independentes; b: t-teste para amostras emparelhadas.

Tabela 8. Modelo EEG – Influência das variáveis nos valores de glicose

Variável	Glicose (mg/dL)		
	$\beta$	95% IC	p
<b>Esquema terapêutico:</b>			0,346
<b>INRT+IP</b>	3,7	-8,1; 15,5	0,537
<b>INNRT+IP</b>	-3,3	-9,8; 3,2	0,322
<b>Idade<sup>1</sup></b>	0,59	0,23; 0,95	0,001
<b>Sexo<sup>2</sup></b>	0,584	-5,7; 6,9	0,856
<b>IMC<sup>3</sup>:</b>			0,055
<b>Baixo peso (&lt;18.5)</b>	-4,3	-13,5; 4,9	0,361
<b>Peso elevado (25.0–29.9)</b>	-3,9	-14,0; 6,3	0,455
<b>Obesidade (≥30.0)</b>	15,4	2,6; 28,1	0,018
<b>Lipodistrofia<sup>4</sup></b>	-5,6	-15,1; 3,9	0,246
<b>Contagem linfócitos T CD4<sup>+</sup></b>	-0,016	-0,03; 0,001	0,041
<b>Carga vírica</b>	-4,1x10 <sup>-6</sup>	-6,9x10 <sup>-6</sup> ; -1,4x10 <sup>-6</sup>	0,003
<b>Coinfeção HCV/HBV</b>	13,8	1,2; 26,5	0,032
<b>Constante</b>	77,0	62,0; 92,0	

$\beta$ : aumento ou baixa previstos (mg/dL) por unidade de variação da variável; 95% IC: Intervalo de confiança 95% de  $\beta$ ; INRT: Inibidores da Transcriptase Reversa, INNRT: Inibidores Não Nucleosídeos da Transcriptase Reversa; IP: Inibidores da protease; 1: população estudada vs. HAART-naïve; 2: masculino vs. feminino; 3: peso baixo, alto e obeso vs. peso normal; 4: lipodistrofia vs. sem lipodistrofia; Modelo estatístico EEG (equações de estimação generalizadas).

### 8.2.2 Discussão

Na avaliação da glicose em jejum todos os doentes, tratados apresentaram aumentos ao fim do período de *follow-up*. Os aumentos mais expressivos aconteceram nos pacientes tratados com os IP (9,5%). A terapêutica não revelou ser um fator preditivo significativo ao contrário, da idade ( $p=0,001$ ) e da obesidade ( $p=0,0018$ ), que, tal como na população geral, revelaram ser factores de risco.

Estes resultados reforçam a maioria dos estudos publicados nesta matéria [221,223,368], que também responsabilizam os fatores transversais à população geral como determinantes da disglícemia nos indivíduos infetados por VIH.

A coinfeção, como potenciador da diabetes, resulta do desenvolvimento de fibrose hepática e cirrose [18], com aumento da síntese de ácidos gordos livres [52]. Os resultados encontrados estão de acordo com os estudos de Mandina *et al.* [53,61] e Gutierrez *et al.*, ambos publicados em 2012 e que referem estar as hepatites víricas entre os maiores fatores de risco para a DM [369].

A CV foi, seguido da idade, o preditor mais significativo dos níveis de glicose. De acordo com o modelo EEG desenvolvido, os valores de glicose diminuem com a CV, ou seja, com a atividade replicativa do vírus. Este resultado contradiz o já relatado por alguns autores [61] mas, no nosso entendimento, é uma consequência imediata do esforço energético, por parte do hospedeiro, nas fases mais intensas da replicação. A diminuição dos níveis de colesterol total na infeção por VIH, quando ainda não se dispunha de ARV, também foi deste modo justificada por vários investigadores [88,157,159,217].

Para além dos fatores comuns e dos associados à terapia, grande parte da literatura destaca o papel de subjacentes defeitos metabólicos dos lípidos e da inflamação nas alterações do metabolismo da glicose e na DM. A argumentação envolve os transtornos de lipotoxicidade e inflamatórios, que conduzem à RI e, consequentemente, à disglícemia [51-53]. Na infeção por VIH existe um aumento da libertação de TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-8 pelas células infetadas, Esta resposta inflamatória pode estar subjacente à RI, com aumento do índice HOMA [52].

Samaras *et al.* (2008) e Brown *et al.* (2009) destacam essa inflamação, estudada algum tempo após iniciar HAART, como os maiores fatores de risco para a DM. Samaras *et al.* referem ainda a lipoatrofia e a obesidade como potenciadores do aumento da glicose [219]. Arama *et al.* (2013) lembram a conhecida associação entre níveis elevados

TG e níveis baixos de adiponectina com a RI e a DM [370]. Esta suspeita mantém-se, neste estudo, quando se encontrou um índice HOMA significativamente diferente entre os grupos, com valores mais elevados nos indivíduos tratados com IP.

O aumento médio de 4,8% na incidência de DM está de acordo com a maioria dos estudos publicados, que apontam valores entre 2 e 5% [223,371]. O estudo *Data Collection on Adverse Events of Anti-HIV Drugs* (D:A:D), talvez o mais profundo estudo sobre estas alterações, refere um aumento de 4,2% na incidência de DM, particularmente associado ao aumento do IMC, TG e aumento de 5 anos na idade. Dentro das covariáveis associadas à infeção, a lipoatrofia e o aumento dos CD4 seriam, segundo esse estudo, marcadores preditivos, enquanto a coinfeção com vírus das hepatites B e C seriam apenas potenciadores da DM [371].

Em contraste com o referido na literatura [52,223,368,372], a lipodistrofia não se associou aos mais altos valores de glicose em jejum. Rasmussen *et al.*, em 2012, relatam um aumento de 2,4% na DM num estudo anterior, onde responsabilizam o IMC e a exposição ao Indinavir, Saquinavir, Estavudina e Didanosina, para além da lipoatrofia, por esse aumento [223]. Estes autores relataram que a presença de lipodistrofia com lipoacumulação abdominal aumenta o risco de DM, argumentando que os pacientes VIH positivo têm níveis de insulina diminuídos, por estímulo à disponibilidade de glicose, aumento dos lípidos intra-celulares e comprometimento da captação da glicose pelo músculo esquelético [52].

Por outro lado, Sutinen *et al.*, 2002 sugerem que a RI em pacientes com VIH está mais estreitamente relacionada com a acumulação de gordura no fígado do que com a gordura intra-abdominal [148]. Os casos encontrados nas nossas amostras de estudo eram, na sua maioria, de lipoatrofia facial, sem lipoacumulação evidente, o que não será comparável. No nosso ponto de vista, a relação da lipodistrofia com a disglícemia é ainda um fenómeno pouco compreendido, e em pacientes infetados pelo VIH requer uma maior investigação.

As publicações que associam as alterações do metabolismo da glicose aos fármacos, particularmente aos IP e INRT [52,64], alegam alterações na captação celular da glicose (devido a interferências dos fármacos com o transportador de glicose celular Glut-4 e/ou inibição da expressão do PPAR- $\gamma$  [218]). Os INRT também têm sido responsabilizados pela aceleração do mecanismo patogénico do desenvolvimento da DM, pela suspeita de inibirem a DNA-polimerase, levando a disfunção mitocondrial [51,52,155,221,222].

A medicação HAART não se revelou um preditor significativo de DM na amostra por nós estudada. Apesar da maioria das publicações responsabilizar constantemente a terapia pela dislipidemia e também pelos distúrbios do metabolismo da glicose [51,221,223,372], a ideia de que a HAART promove disglícemia não é consensual. Vários autores defendem que nem o vírus nem a infeção pelo VIH aumentam o risco de diabetes [368,373], relacionando a incidência de hiperglicemia em pacientes com VIH somente com fatores de risco convencionais, como a idade e o IMC, o que está de acordo com as conclusões deste estudo [368,373].

Com efeito, na sua maioria os relatos de aumentos nos níveis de glicose e de lípidos em pacientes infetados pelo VIH são anteriores a 1999, estando portanto em causa a monoterapia com a primeira geração de fármacos ARV, como a Estavudina e o Indinavir, e o uso de fármacos potencialmente diabetogénicos, como o isotionato de pentamidina, para prevenção e tratamento da pneumonia por *Pneumocistis jiroveci* [155], ou remontam aos primeiros anos após a introdução da HAART, correspondentes à utilização de Indinavir, Saquinavir, Estavudina e Didanosina [155].

Com o desenvolvimento de novas moléculas e a modificação dos regimes terapêuticos, nomeadamente a substituição de IP por INNRT [217] ou a introdução de IP mais favoráveis (como é o caso de Atazanavir) [155,373], o perfil metabólico pacientes melhorou significativamente. Além disso, o reconhecimento, nos últimos anos, do síndrome metabólico na população infetada levou os clínicos a monitorizar regularmente os lípidos e a glicose nesta população. Na realidade, o trabalho aqui apresentado, em comparação com o nosso publicado anteriormente [223], já apresenta melhorias no que diz respeito ao perfil de lípidos, o que pode ser atribuído ao facto de alguns pacientes estarem agora a ser tratados com estatinas e fibratos, para além dos antidiabéticos orais.

## **8.3 Stresse oxidativo e inflamação**

### **8.3.1 Resultados**

Para avaliar a inflamação e a capacidade antioxidante total na infeção por VIH foi estudada, numa subpopulação de infetados, a proteína C reactiva (PCRus) e o *status* antioxidante total (TAS), os oligoelementos (Cu, Zn, Se e Mn), frente a uma amostra de controlo de 30 adultos, jovens estudantes universitários, predominantemente do sexo masculino e considerados saudáveis. Mediu-se também a citocina pró-inflamatória (IL-6)



cujos resultados foram comparados com os valores de referência admitidos por para a população normal. Os resultados estão resumidos na Tabela 9.

Tabela 9. Avaliação dos marcadores de inflamação e do *status* antioxidante total

Variável	INRT+INNRT	INRT+IP	HAART-naïve	Controlo	p
<b>PCRus (mg/L) Me (AIQ)</b>	1,2 (0,7-3,2)	1,5 (0,5-2,8)	2,1 (0,7-3,1)	0,3 (0,3-1,1)*	
<b>IL-6 (pg/mL) Me (AIQ)</b>	2,7 (1,5-3,7)	2,8 (1,7-4,4)	2,6 (2,2-3,2)	<7,0 <sup>1</sup>	
<b>TAS (mmol/L) Me (AIQ)</b>	1,3 (0,9-1,9)	1,4 (1,0-1,9)	1,7 (1,0-1,9)	2,5 (2,2-3,1) <sup>a</sup>	
<b>Cu (µg/L) Med (95%IC)</b>	1117 (1046-118)	1058 (1009-1107)	1068 (820-1316)	906* (787-1024)	
<b>Zn (µg/L) Med (95%IC)</b>	7562 (7172-7951)	7351 (6980-7721)	7797 (6647-8948)	6003* (5736-6270)	
<b>Se (µg/L) Med (95%IC)</b>	154 (144-165)	153 (144-161)	153 (124-182)	152 (143-160)	
<b>Mn (µg/L) Med (95%IC)</b>	7,5 (6,6-8,3)	7,6 (6,9-8,2)	8,7 (6,3-11,2)	7,2* (6,7-7,8)	
<b>Razão Cu/Zn</b>	0,15 (n=31)	0,14 (n=40)	0,14 (n=7)	0,15 (n=30)	

n (%): número (percentagem); Me (AIQ): mediana (Amplitude Inter-quartil); Med (95% IC): média (Intervalo de confiança a 95%); HAART: *Highly Activity Anti-Retroviral Therapy*; HAART-naïve: sem tratamento HAART; INRT: Inibidores Nucleosídeos da Transcriptase Reversa; INNRT: Inibidores Não Nucleosídeos da Transcriptase Reversa; IP: Inibidores da Protéase; PCRus: Proteína C Reativa ultrasensível; IL-6: Interleucina 6; TAS: *Status* antioxidante total; Cu: Cobre; Zn: Zinco; Se: Selénio; Mn: Manganês; teste de Mann-Whitney.

Os valores de PCRus, em qualquer um dos grupos de indivíduos infetados, foram claramente superiores e estatisticamente diferentes ( $p=0,000$ ) dos da amostra de controlo, que apresentou uma mediana de 0,30 mg/dL. Nos indivíduos infetados, aqueles que não estavam sob terapia (grupo HAART-naïve), e por isso com uma carga vírica superior, apresentaram valores mais elevados [2,1 (0,7-3,1) mg/dL] em relação aos tratados com IP [1,5 (0,5-2,8) mg/dL] e aos tratados com INNRT [1,2 (0,7-3,2) mg/dL].

Como veremos, no decorrer do estudo (Tabela 10), são também mais elevados os valores de PCRus nos pacientes que apresentam valores de CD4 entre 200 e 400, nos

<sup>1</sup> Valores de referência da IL-6 (população normal), segundo Abbott.

que estão em risco de SM (cumprem 2 critérios de classificação, Tabela 24), nos que têm valores elevados de HCY (>14 µmol/L, Tabela 32) e nos que têm valores mais baixos de HDL (<50 mg/dL nos indivíduos do sexo feminino e <40 mg/dL nos indivíduos do sexo masculino, Tabela 11).

Os valores de IL-6, quando comparados com os valores de referência para a população saudável (<7,0 pg/mL) eram todos “normais” e semelhantes entre os três grupos (HAART-naïve: 3,2 pg/mL); terapêutica com IP: pg/mL); terapêutica com INNRT: 3,7 pg/L). À semelhança da PCRus na população estudada, os valores medianos de IL-6 foram significativamente mais elevados para CD4 < 200 e entre 200-400 células/mm<sup>3</sup> (p=0,038) (Figura 8, Tabela 10).

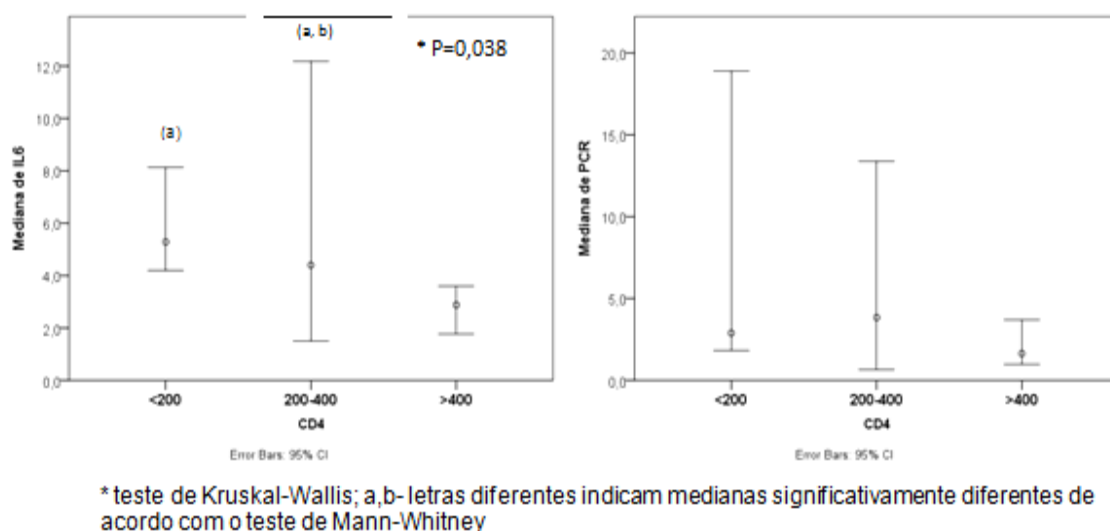


Figura 8. Relação de IL-6 e PCRus com os valores de CD4

Tabela 10. Relação dos marcadores IL-6 e PCRus com os linfócitos CD4

	CD4 (cell/mm <sup>3</sup> )	n	média	DP	Me	P25	P75	Min	Max	p*
<b>IL-6 (pg/mL)</b>	<200	4	5,73	1,77	5,29 a	4,31	7,59	4,20	8,13	0,038
	200-400	9	6,06	4,24	4,40 a,b	2,46	10,55	1,50	12,50	
	>400	27	7,38	19,17	2,88 b	1,50	3,80	1,50	99,70	
<b>PCRus (mg/dL)</b>	<200	4	6,63	8,20	2,89	2,05	14,95	1,83	18,90	0,498
	200-400	10	9,40	16,32	3,84	0,78	10,68	0,21	54,10	
	>400	27	3,54	4,07	1,64	0,96	4,91	0,28	17,92	

\* Teste de Kruskal-Wallis; a,b- letras diferentes indicam medianas significativamente diferentes de acordo com o teste de Mann-Whitney

Tabela 11. Relação dos marcadores IL-6 e PCRus com os valores de HDL

	HDL (mg/dL)	n	média	D.P	Me	P25	P75	Min	Max	p*
<b>IL-6 (pg/mL)</b>	HDL ≥50(M) & ≥40(H)	48	4,07	4,40	2,90	1,73	4,74	1,50	29,00	0,854
	HDL <50(M) & <40(H)	28	6,78	18,34	3,05	2,10	3,82	1,50	99,70	
<b>PCRus (mg/dL)</b>	HDL ≥50(M) & ≥40(H)	52	3,46	4,05	1,81	0,75	4,47	0,21	18,90	0,372
	HDL <50(M) & <40(H)	33	8,62	21,48	2,30	1,05	5,22	0,20	115,40	

\* Teste de Mann-Whitney

A capacidade antioxidante total (TAS), comparada com a da população de controlo (saúdável), era menor em todos os infetados, estivessem em tratamento HAART ou não ( $p=0,000$ ) [Tabela 9]. Quando se estudaram os seus valores na amostra total classificada para SM (Tabela 24), verificámos também uma diferença significativa entre os grupos, sendo que é no grupo de risco para SM que se encontram os valores significativamente mais baixos ( $p=0,024$ ). Por último, também se verificou uma diferença significativa em relação aos valores de HCY (Tabela 35), sendo os valores  $> 14 \mu\text{mol/L}$  associados a menores valores de TAS ( $p=0,017$ ).

Quanto aos oligoelementos (Tabela 9), todos os grupos de indivíduos infetados apresentaram valores médios superiores aos da amostra de controlo, sendo que nos casos do Cu, Zn e Mn as diferenças foram estatisticamente significativas ( $p=0,004$ ).

### 8.3.2 Discussão

A inflamação crónica parece ser o denominador comum da degenerescência celular, da apoptose, da RI e do mecanismo da disfunção endotelial [374,375]. Vários estudos em indivíduos infetados por VIH avaliaram o processo inflamatório medindo a PCRus e a IL-6, e alguns deles relacionaram estes marcadores diretamente com a aterogénese [376]. Por exemplo, Feldman *et al.* (2003) avaliaram os níveis de PCRus em mulheres infetadas por VIH, e observaram que aqueles podem antever o risco de mortalidade por problemas cardiovasculares nessas doentes [377].

Alguns autores estudaram a relação dos níveis de PCRus nos infetados por VIH com a HAART. Masiá *et al.* encontraram, em pacientes sujeitos a este tratamento, níveis mais elevados de PCRus, particularmente entre os fumadores e os indivíduos do sexo masculino, quando comparados com os HAART-naïve [378]. A mesma conclusão foi

publicada por Guimarães *et al.*, em 2008, quando verificaram um aumento significativo de PCRus entre pacientes sob HAART, sugerindo que o aumento de risco cardiovascular nos pacientes infetados, apesar de se associar aos fatores tradicionais, seria superior nos indivíduos submetidos à terapia tripla combinada [379].

Por outro lado, Dolan *et al.* avaliaram mulheres infetadas pelo VIH, estudando vários marcadores de inflamação, não tendo encontrado relação entre os níveis de IL-6 e PCRus e o uso de HAART ou a condição imunológica, mas sim com o aumento da gordura visceral, quando comparadas com o grupo controlo de mulheres não infetadas.

Estes resultados, segundo os autores, aparentemente afastam a infeção e o tratamento da responsabilidade por esse aumento [380]. Samaras *et al.* estudaram também marcadores inflamatórios em pacientes infetados pelo VIH e em pacientes seronegativos obesos com RI, tendo encontrado níveis semelhantes de PCRus em ambos os grupos [219], ou seja, os aumentos provocados pela infeção seriam equivalentes aos aumentos devidos à obesidade nos sujeitos não infetados.

Os resultados da literatura são geralmente conflituosos, considerando alguns autores que os níveis de PCRus nada têm a ver com a infeção ou com o tratamento, enquanto outros os relacionam não só com a infeção por VIH mas também com o potencial aterogénico de alguns fármacos ARV [381]. Sobre a capacidade de previsão, de SM, dos marcadores de inflamação, as opiniões também se dividem entre os que elegem a PCRus e os que indicam a IL-6 como o melhor marcador [26,27,382]. Todos, porém, são confrontados com um problema, que é o facto de esta infeção ser normalmente acompanhada por outras, agudas ou crónicas, e outros fatores de risco, como o tabagismo e os distúrbios metabólicos (também capazes de induzir inflamação crónica), introduzindo importantes fatores de confusão na avaliação [383]. No presente estudo, onde os fatores conflituantes também estão presentes, e sendo a amostra de indivíduos com SM significativamente mais idosa ( $p=0,037$ ).

Encontramos valores de PCRus significativamente mais elevados nos doentes infetados em relação à população saudável ( $p=0,000$ ). Nos infetados os valores de PCRus também são superiores nos doentes sem terapia HAART, o que nos põe em concordância com os estudos que descrevem que o aumento daquele marcador não terá como causa a terapia.

Quando se analisa a relação dos níveis de PCRus com o SM, encontramos valores mais elevados no grupo classificado com SM, mas o seu pico máximo é identificado no subgrupo “de risco”, assim designado por já cumprir 2 critérios de classificação (Tabela

24), o que nos leva a concluir que a PCRus é um bom marcador para prever o SM nos indivíduos infectados por VIH.

A IL-6 nestes doentes apresentou valores médios dentro do intervalo considerado normal (valores de referência). Dado que se trata de doentes com um longo tempo de infeção e virologicamente estáveis, onde o processo de resposta imunitária já estará desenvolvido, não estão expressos, nesta fase, grandes níveis desta citocina, fundamental na iniciação do processo. Constatámos que os resultados eram significativamente mais elevados ( $p=0,038$ ) para valores de  $CD4 < 200$  ( $Me=5,29$ ) e entre 200 e 400 células/ $mm^3$  ( $Me=4,40$ ), quando comparados com os observados nos doentes com contagens  $> 400$  células/ $mm^3$  ( $Me=2,88$ ) [Tabela 10].

Os oligoelementos são parte do sistema de defesa imunológica do organismo e as suas alterações poderão ser induzidas pelas citocinas libertadas, principalmente por macrófagos ativados em resposta à infeção [282,291,293]. Por estes motivos tão intimamente ligados à infeção por VIH, a nutrição está, desde a descoberta daquela infeção, sob suspeita, despertando a atenção dos cientistas, não só como potencial causa [291] mas como eventual consequência [287,288] da patologia associada ao VIH [261,282,289,290].

Mariana Baum tem investigado profundamente este assunto e, em diferentes estudos publicados, salienta a importância do Zn na infeção por VIH e nas situações de abuso de drogas. Níveis de Zn em intervalos indicativos de deficiência são prevalentes entre homens e mulheres que usam drogas e nos infectados pelo VIH-1, mesmo entre aqueles que recebem HAART. A investigadora reafirma ainda a importância do Zn, há muito reconhecida, como um fator importante na manutenção um sistema imunológico saudável. A deficiência de Zn reduz a produção de células T e deprime a imunidade humoral e celular (importantes no controlo da replicação intracelular do VIH-1). Por outro lado, relata o efeito no retardamento da progressão da infeção VIH-1 e na diminuição da taxa de infeções oportunistas conseguida com a administração de suplementos deste elemento [259,261,289,317,322,326,327,384].

Diversos outros autores também denunciaram as baixas de Zn na infeção por VIH-1, com aumento da razão Cu/Zn, indicando esta razão como um marcador de progressão da doença [304,309].

Em relação ao Se, vários estudos relataram também alterações (particularmente diminuições dos níveis sanguíneos), destacando a sua relação com o stresse oxidativo e a inflamação provocados pelo VIH [318,326,329,385,386], sendo que alguns estudaram

também o efeito positivo da suplementação [328]. Os referidos estudos reportam-se aos anos 1990-2000, e os mais recentes foram realizados em países pobres (Nigéria e Burundi), onde o acesso à suplementação estará grandemente dificultado [387].

Contrariando esta tendência, Walter *et al.* num estudo feito em diferentes estádios da infeção, afirma não ter encontrado evidências de que o VIH provoque baixas de Zn, ou que este seja um fator determinante para a infeção. E em 2012, num estudo feito no Irão para avaliar os parâmetros hematológicos na população infetada por VIH, encontraram-se valores superiores de Zn e de magnésio frente a um grupo de controlo (indivíduos não infetados).

Os valores médios de Cu, Zn, Mn e Se foram superiores aos do grupo de controlo, constituído por um grupo de jovens estudantes universitários, aparentemente saudáveis. O facto de a população infetada não pertencer já a franjas de população pouco estruturadas, pouco informadas e pelas circunstâncias sociais ou de localização mais pobre, faz com que a nutrição deixe de ser um motivo de preocupação tão relevante. O conhecimento atual da doença e do estágio da infeção pode levar a que os doentes, por sua iniciativa, tomem suplementos alimentares. Outro fator que pode contribuir para este resultado é o facto de estes doentes estarem virologicamente suprimidos e clinicamente estáveis. Por outro lado, nada garante que os sujeitos do grupo de controlo, estudantes maioritariamente afastados do seu núcleo familiar, tenham uma dieta muito adequada.

Os níveis superiores de Cu poder-se-iam explicar pelo maior nível de inflamação, com os consequentes maiores níveis de ceruloplasmina (proteína de fase aguda). No entanto, considerando a razão Cu/Zn, verificamos que não há uma diferença significativa entre doentes e grupo de controlo (Tabela 9).

Apesar dos valores medianos de Cu serem superiores aos do grupo de controlo, os infetados com SM apresentaram valores significativamente mais baixos ( $p=0,030$ ) [Tabela 21], o que leva a pensar num maior consumo deste oligoelemento face a um maior stresse oxidativo, encontrado nos infetados com SM.

Os valores de TAS dão-nos uma ideia do equilíbrio dinâmico entre os pró-oxidantes e os antioxidantes [388]. Durante a infeção crónica por VIH há um aumento relevante de ERO a nível local ou sistémico, com perturbação da defesa antioxidante e, consequentemente, com a disfunção de proteínas, ácidos nucleicos, hidratos de carbono e lípidos [255,256]. O stresse oxidativo tem sido associado ao curso da infeção por VIH, relacionando-o com muitos aspetos da patogénese da doença, nomeadamente a

resposta inflamatória, a diminuição da proliferação de células imunitárias, a perda de função e a apoptose celular [37,257].

Estudos em indivíduos assintomáticos ou já numa fase mais avançada da infeção por VIH demonstraram elevados níveis de stresse oxidativo, com alterações da atividade das enzimas GPx, CAT e SOD e redução do TAS. Verificou-se também um aumento dos metabolitos da peroxidação lipídica, aumento do malondialdeído e uma redução dos níveis de antioxidantes plasmáticos quando comparados com controlos saudáveis [259-261].

Como já foi referido, o valor de TAS foi significativamente mais baixo nos infetados no grupo com SM e no grupo de risco de SM e nos doentes com hiperhomocisteinemia, um reconhecido marcador independente de doença cardiovascular.

Segundo análise logística univariada de fatores de risco associados a TG elevados, os baixos valores de TAS prevêm triglicerídeos >150 mg/dL ( $p=0,052$ ) [Tabela 27].

Estes resultados, em plena concordância, são consistentes na defesa da tese de que o balanço entre a inflamação gerada pela infeção (e eventual coinfeção, mesmo que latentes) e a capacidade antioxidante ditarão o caminho para o SM e o risco cardiovascular no indivíduo infetado por VIH.

De um modo consistente, pela associação significativa com todos os níveis de risco, o TAS afirma-se como um indicador fiável para prever o SM no indivíduo infetado por VIH.

A avaliação da capacidade antioxidante podia ter ser aprofundada através da determinação direta da atividade das enzimas antioxidantes GPx e SOD, mas a manipulação das amostras a que as metodologias analíticas disponíveis obrigam implicava um elevado risco para os analistas que apoiaram esta investigação.

## 8.4 Síndrome metabólico

### 8.4.1 Resultados

A avaliação do SM, objetivo final deste estudo, foi feita na totalidade dos indivíduos infetados, estudados ao longo de todo o período de *follow-up*. De referir que 180 pacientes estavam sob terapia HAART e os restantes 69, na mesma faixa etária e com uma distribuição por sexos equivalente, ainda não tinha experimentado qualquer tipo de terapêutica HAART.

Na amostra total verificou-se uma maior percentagem de indivíduos do sexo masculino [185 (69,5%),  $p < 0,05$ ], predominantemente casados ( $n=68$ , 45%), seguindo-se os solteiros ( $n=59$ , 39,1%), os divorciados ( $n=22$ , 14,6%) e os viúvos ( $n=2$ , 1,3%) (Tabela 12).

No que interessa para tentar determinar a eventual via de infeção, e no que foi possível apurar, predominavam os indivíduos heterossexuais ( $n=71$ , 26,7%), seguidos dos toxicodependentes ( $n=49$ , 18,4%). A homossexualidade foi referida em 12 casos a bissexualidade em dois. Num caso ocorreu transmissão vertical. Nos que foi possível apurar apenas metade ( $n=108$ , 50%) tinha peso normal, alguns ( $n=9$ , 4,2%) apresentavam baixo peso. O somatório dos que tinham excesso de peso e obesidade (77 + 22) era, pois muito semelhante aos de peso normal.

Em relação à terapêutica ARV, no final do *follow-up*, 36,7% dos pacientes ( $n=91$ ) estavam com a combinação INRT+IP e 35,9% ( $n=89$ ) com INRT+INNRT, sendo que 27,4% ( $n=69$ ) estavam ainda sem terapia.

A idade média foi de aproximadamente 44 anos, mas assinalam-se os limites de 15, que correspondem a um indivíduo infetado por transmissão vertical e, no outro extremo, um idoso com 89 anos de idade (Tabela 12). Relativamente à comparação grupo sob HAART com o grupo sem terapia (*naïve*), eles diferiam significativamente na idade, sendo significativamente mais idosos os submetidos à HAART [42 (35,3-50,8),  $p < 0,001$ ]. De reafirmar que a idade não diferia significativamente por sexo (Tabela 13).



Tabela 12. Caracterização da amostra total para avaliação de SM

Variável	Categoria		Estatísticas
<b>Sexo (n=266)</b>	Feminino	n (%)	81 (30,5%)*
	Masculino	n (%)	185 (69,5%)*
<b>Idade, anos (n=264)</b>		med ( $\pm$ DP)	43,9 ( $\pm$ 11,8)
		Me (AIQ)	42 (35,3-50,8)
		Min-Max	15-89
<b>Estado civil (n=151)</b>	Casado	n (%)	68 (45%)
	Solteiro	n (%)	59 (39,1%)
	Divorciado	n (%)	22 (14,6%)
	Viúvo	n (%)	2 (1,3%)
<b>Via de infecção</b>	Heterossexual	n (%)	71 (26,7%)
	Homossexual	n (%)	12 (4,5%)
	Toxicodependência	n (%)	49 (18,4%)
	Bissexual	n (%)	2 (0,8%)
	Transmissão vertical	n (%)	1 (0,4%)
	Não conhecida	n (%)	132 (49,6%)
<b>Classificação IMC, kg/m<sup>2</sup> (n=215)</b>	Peso normal (18,5-24,9)	n (%)	108 (50%)
	Baixo peso (<18,5)	n (%)	9 (4,2%)
	Alto peso (25,0-29,9)	n (%)	77 (35,6%)
	Obesidade ( $\geq$ 30,0)	n (%)	22 (10,2%)
<b>Terapêutica HAART (n=249)</b>	INRT+IP	n (%)	91 (36,7%)
	INRT+INNRT	n (%)	89 (35,9%)
	Naïve	n (%)	69 (27,4%)

med ( $\pm$ DP): média $\pm$ desvio padrão; Me (AIQ): mediana (amplitude inter-quartil); Min-Max: mínimo-máximo; IMC: índice de massa corporal; n (%): número (percentagem), HAART: *Highly Activity Anti-Retroviral Therapy*, INRT: Inibidores Nucleosídeos da Transcriptase Reversa, INNRT: Inibidores Não Nucleosídeos da Transcriptase Reversa, IP: Inibidores da Protéase, \*diferenças estatisticamente significativas de acordo com o teste de Mann-Whitney

Tabela 13. Idade dos participantes da amostra total para avaliação do SM

Idade	Sexo	med ( $\pm$ DP)	Me (AIQ)	Min-Max	p
<b>Tratados</b>	-	43,9 ( $\pm$ 11,8)	42 <sup>a</sup> (35,3-50,8)	15-89	<0,001
<b>Não tratados</b>	-	32,0 ( $\pm$ 11,8)	30 <sup>b</sup> (22,0-39,0)	19-75	
<b>Tratados</b>	Feminino	41,8 ( $\pm$ 13)	41,5 (31-50,8)	16-71	0,103
	Masculino	39,6 ( $\pm$ 11,7)	39 (32-46)	15-89	
<b>Não tratados</b>	Feminino	33,7 ( $\pm$ 10,4)	33 (24-40,8)	19-54	0,056
	Masculino	30,2 ( $\pm$ 13,1)	23 (21-36)	19-75	

média ( $\pm$ DP): média $\pm$ desvio padrão; Me (AIQ): mediana (amplitude inter-quartil); Min-Max: mínimo-máximo, teste de independência do qui-quadrado, <sup>a,b</sup> – letras diferentes indicam diferenças significativas de acordo com o teste de Mann-Whitney.

Relativamente à restante terapia declarada, 30,3% (n=30) tomavam anti-hipertensores, 13,7% (n=14) tomavam antidiabéticos orais, 5,2% (n=4) administravam insulina, 17,8% (n=18) tomavam fibratos e 19,8% (n=20) tomavam estatinas (Tabela 14).

Tabela 14. Caracterização da amostra total para avaliação de SM quanto às terapias não HARRT

	Hipertensivos n (%)	Antidiabéticos orais n (%)	Insulina IV n (%)	Fibratos n (%)	Estatinas n (%)
<b>Não</b>	69 (69,7%)	88 (86,3%)	73 (94,8%)	83 (82,2%)	81 (80,2%)
<b>Sim</b>	30 (30,3%)	14 (13,7%)	4 (5,2%)	18 (17,8%)	20 (19,8%)
<b>Total</b>	99 (100%)	102 (100%)	77 (100%)	101 (100%)	101 (100%)

n (%): número (percentagem); Insulina IV (Insulina administração injetável)

Quanto ao estágio da infeção, a maioria dos indivíduos estava em supressão, com uma carga vírica mediana de 20 (20-185) cópias de ARN vírico/mL de sangue, e a contagem de CD4 era de 516 ( $\pm 272$ ) células/mm<sup>3</sup> (Tabela 15).

Tabela 15. Caracterização da amostra total para avaliação de SM quanto ao estágio da infeção

Variável	Categoria	Estatísticas
<b>CD4 (cel/ mm<sup>3</sup>) (n=263)</b>	med ( $\pm$ DP)	516 ( $\pm 272$ )
	Me (AIQ)	484 (342-656)
<b>CV (10<sup>3</sup> cóp. ARN/mL) (n=264)</b>	med ( $\pm$ DP)	35,63 ( $\pm 408,23$ )
	Me (AIQ)	0,02 (0,02-1,85)
<b>Coinfeção HCV/HBV (n=189)</b>	Não, n (%)	109 (57,7%)
	Sim, n (%)	80 (42,3%)
<b>Lipodistrofia (n=168)</b>	Não, n (%)	117 (69,6%)
	Sim, n (%)	51 (30,4%)
<b>Classificação da infeção (n=209)</b>	Infeção crónica n (%)	131 (62,7%)
	SIDA n (%)	78 (37,3%)

med ( $\pm$ DP): média  $\pm$  desvio padrão; Me (AIQ): mediana (amplitude inter-quartil); n (%): número (percentagem); CD4: linfócitos T CD4/mm<sup>3</sup> de sangue; CV: carga vírica; HCV: vírus da hepatite C; HBV: vírus da hepatite B; cóp ARN/mm<sup>3</sup>: cópias de ácido ribonucleico por milímetro cúbico de sangue

Nos indivíduos estudados para classificação de SM, 30,4% (n=51) tinham lipodistrofia, 42,3% (n=80) estavam coinfectados com os vírus da hepatite B e/ou C e 37,3% (n=78) tinham ou já tiveram alguma condição definidora de SIDA (Tabela 15).

O perfil lipídico desta amostra total (Tabela 16) revelou um valor médio de TG de 156,0 ( $\pm 93,0$ ) mg/dL, mas como foi já descrito, 17,8% (n=20) tomavam fibratos. Em relação ao CT, encontraram-se valores entre 82 e 304 mg/dL com uma média e mediana de 187 mg/dL, apesar dos 19,8% de indivíduos (n=20) que tomavam estatinas.

O valor médio de HDL foi 46,8 ( $\pm 16,3$ ), num intervalo com um mínimo de 19 e um máximo de 105 mg/dL, e a razão CT/HDL (Me; AIQ) foi de 4,25 (3,19-5,34).

A mediana da glicose situou-se nos 87 mg/dL, com valores que oscilaram entre 48 e 330 mg/dL. A mediana da concentração plasmática de insulina foi 10,8 ( $\pm 12,3$ ) pg/mL, num intervalo de 1,25-88,5 pg/mL, e o índice HOMA calculado resultou num valor de 2,72 ( $\pm 3,97$ ), para um intervalo de 0,29-29,3, indicando valores que definem insulinoresistência.

Tabela 16. Perfil lipídico e glicémico da amostra total para avaliação de SM

	n	med ( $\pm$ DP)	Me (AIQ)	Min-Max
<b>Triglicerídeos (mg/dL)</b>	198	156,0 ( $\pm 93,0$ )	133 (90-201,8)	34-580
<b>Colesterol total (mg/dL)</b>	197	187,3 ( $\pm 43,6$ )	187 (157,5-217)	82-304
<b>Colesterol-HDL (mg/dL)</b>	198	46,8 ( $\pm 16,3$ )	44 (36-56)	19-105
<b>Razão CT/HDL</b>	193	4,41 ( $\pm 1,72$ )	4,25 (3,19-5,34)	1,61-13,8
<b>Colesterol-LDL (mg/dL)</b>	195	112,4 ( $\pm 38,12$ )	111 (92,8-135,8)	11-210
<b>Razão LDL/HDL</b>	195	2,70 ( $\pm 1,33$ )	2,53 (1,83-3,34)	0,31-9,55
<b>Glicose (mg/dL)</b>	246	92,5 ( $\pm 24,5$ )	87 (81-97,25)	48-330
<b>Insulina (pg/mL)</b>	200	10,8 ( $\pm 12,3$ )	7,12 (4,32-11,4)	1,25-88,5
<b>Índice HOMA</b>	194	2,72 ( $\pm 3,97$ )	1,48 (0,9-2,56)	0,29-29,3

med ( $\pm$ DP): média $\pm$ desvio padrão; Me (AIQ): mediana (amplitude inter-quartil);n: número; Min-Max: mínimo-máximo; CT: colesterol total;HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; mg/dL: miligrama por decilitro; pg/mL: picograma por mililitro; HOMA: *Homeostatic Model Assessment*.

Nos marcadores inflamatórios encontramos um valor médio de 5,52 ( $\pm 13,73$ ) mg/dL, com a mediana nos 2,1 mg/dL para a PCRus; média de 5,28 ( $\pm 11,69$ ) e mediana 2,95 pg/mL, para a IL-6 (Tabela 17). Comparando com os valores de referência para a população saudável ( $< 0,5$  mg/dL), os valores de PCRus estão notavelmente elevados. O valor médio da HCY ( $14,99 \pm 4,83$   $\mu\text{mol/L}$ ) também se afasta do considerado normal ( $< 14$   $\mu\text{mol/L}$ ). A IL-6, cujo intervalo de referência é  $< 7$  pg/mL, está medianamente normal, mas encontraram-se valores muito elevados, num máximo de 99,7 pg/mL, em alguns pacientes.

Tabela 17. Caracterização da inflamação e risco cardiovascular da amostra total para estudo de SM

	n	med ( $\pm$ DP)	Me (AIQ)	Min-Max
<b>PCRus (mg/dL)</b>	87	5,52 ( $\pm 13,73$ )	2,1 (0,96-4,93)	0,2-11,5
<b>IL-6 (pg/mL)</b>	78	5,28 ( $\pm 11,69$ )	2,95 (1,79-4,44)	1,5-99,7
<b>HCY (<math>\mu\text{mol/L}</math>)</b>	80	14,99 ( $\pm 4,83$ )	14,51 (11,44-17,84)	7,28-32,17

n: número; med ( $\pm$ DP): média $\pm$ desvio padrão; Me (AIQ): mediana(amplitude inter-quartil); Min-Max: mínimo-máximo; PCRus: proteína C reativa ultrassensível; IL-6: interleucina 6.

Os níveis dos oligoelementos Cu, Zn, Se e Mn no sangue total foram, respetivamente, 1081,0 ( $\pm 179,9$ ), 7495,5 ( $\pm 1117,4$ ), 153,4 ( $\pm 28,0$ ) e 8,42 ( $\pm 2,33$ )  $\mu\text{g/L}$ . A capacidade antioxidante total medida pelo TAS foi de 1,41 ( $\pm 0,56$ ) de média e mediana 1,42 mmol/L (Tabela 18).

Tabela 18. Oligoelementos e *status* antioxidante total (TAS) da amostra em estudo para SM

	n	med ( $\pm$ DP)	Me (AIQ)	Min-Max
<b>TAS (mmol/L)</b>	176	1,41 ( $\pm 0,56$ )	1,42 (0,98-1,94)	0,2-2,5
<b>Mn (<math>\mu\text{g/L}</math>)</b>	78	8,42 ( $\pm 2,33$ )	8,19 (6,93-9,65)	3,63-15,39
<b>Cu (<math>\mu\text{g/L}</math>)</b>	80	1081,0 ( $\pm 179,9$ )	1081,8 (949,97-1190,04)	704,26-1686,3
<b>Zn (<math>\mu\text{g/L}</math>)</b>	80	7495,5 ( $\pm 1117,4$ )	7429,4 (6793,5-8333,25)	5050,8-10331,2
<b>Se (<math>\mu\text{g/L}</math>)</b>	80	153,4 ( $\pm 28,0$ )	147,83 (132,6-169,64)	105,21-233,17
<b>Razão Cu/Zn</b>	80	0,15 ( $\pm 0,03$ )	0,14 (0,12-0,17)	0,09-0,25

n: número; med ( $\pm$ DP): média $\pm$  desvio padrão; Me (AIQ): mediana (amplitude inter-quartil); TAS: *status* antioxidante total; Mn: manganês; Cu: cobre; Zn: zinco; Se: selénio.

A dificuldade na obtenção de informação clínica, principalmente quanto às terapias concomitantes e aos dados de IMC, não permitiu definir a presença ou ausência de SM em 65 dos indivíduos estudados. Este número engloba a quase totalidade dos indivíduos do grupo que não estava sob terapia HAART (n=69), uma vez que não sendo monitorizados no Hospital não havia registo dessas eventuais outras terapias nem dos dados antropométricos. Dos 201 indivíduos restantes, 22,9% (n=46) reuniram os critérios do ATP III para serem classificados como tendo SM. Dos 77,1% (n=155) que não tinham SM, 48 já cumpriam 2 critérios de classificação, e foram designados por nós como “grupo de risco” (Tabela 19).

Tabela 19. Classificação de síndrome metabólica na amostra total

Categoria			Estatísticas
<b>Síndrome metabólica</b>	Sim	n (%)	46 (22,9%)
	Não*	n (%)	155 (77,1%)
	Total	n (%)	201 (100%)

\* 48 dos 155 doentes classificados como SM– (31,0 %) cumpriam já 2 critérios de SM; n (%): número (percentagem)

As diferenças entre os grupos classificados “Sem SM” e “Com SM” estão resumidas nas Tabelas 21, 22 e 23.

Comparando os dois grupos, encontram-se diferenças significativas no que respeita à idade, com mais idosos nos que tinham SM [48 (41-57,5) anos;  $p=0,037$ ]; ao IMC, com mais excesso de peso e obesidade no grupo com SM ( $p=0,000$ ); e na insulina em jejum ( $p=0,002$ ) e índice HOMA ( $p<0,001$ ), também mais elevados no grupo com SM. Pelo contrário, os valores de Cu ( $p=0,030$ ) foram significativamente mais baixos que no grupo que não desenvolveu SM (Tabela 22).

Tabela 20. Caracterização dos doentes com síndrome metabólica

Variável	Categoria	Estatísticas
<b>Sexo, n (%)</b>	Masculino	33 (71,7%)
	Feminino	13 (28,3%)
<b>Lipodistrofia, n (%)</b>	Sim	9 (32,1%)
	Não	19 (67,9%)
<b>IMC Homem, n (%)</b>	Peso normal	6 (17,6)
	Excesso de peso	19 (55,9)
	Obeso	7 (20,6)
<b>IMC Mulher, n (%)</b>	Peso normal	1 (8,3)
	Excesso de peso	5 (41,6)
	Obeso	4 (33,3)
<b>Perímetro abdominal (cm), Homem, n (%)</b>	Superior a 102	0 (0)
	Inferior a 102	3 (8,8)
<b>Perímetro abdominal (cm), Mulher, n (%)</b>	Superior a 88	
	Inferior a 88	
<b>Hipertensão arterial, n (%)</b>	Sim	21 (45,7)
	Não	4 (8,6)
<b>Glicose (mg/dL), n (%)</b>	Superior a 110	18 (39,1)
	Inferior a 110	28 (60,9)
<b>Índice HOMA, n (%)</b>	Superior a 3	14 (35%)
	Inferior a 3	26 (65%)
<b>Triglicéridos (mg/dL), n (%)</b>	Superior a 150	34 (73,9)
	Inferior a 150	28 (60,9)
<b>Colesterol-HDL (mg/dL), Homem, n (%)</b>	Superior a 40	83 (23,5)
	Inferior a 40	26 (76,5)
<b>Colesterol-HDL (mg/dL), Mulher, n (%)</b>	Superior a 50	3 (25)
	Inferior a 50	9 (75)

n (%): número (percentagem); IMC: índice de massa corporal; HOMA: *Homeostatic Model Assessment*;

Os TG apresentavam valores elevados, assim como a glicose, enquanto os valores de HDL eram baixos, como seria de esperar neste grupo com SM ( $p < 0,001$ ), já que são critério para classificação, mas surpreendentemente as diferenças no perímetro abdominal não foram significativas ( $p = 0,353$ ).

Quando comparados os dois grupos de indivíduos (com e sem SM) quanto aos marcadores de inflamação (PCRus, IL-6), TAS, HCY e oligoelementos (Zn, Se e Mn) não se verificaram diferenças significativas (Tabela 23), mas os valores médios e medianos de PCRus, IL-6, HCY e TAS discordavam nas possíveis conclusões a tirar.

Em termos de valores médios, a HCY e o TAS eram semelhantes nos 2 grupos e a PCRus e IL-6 mais altas no grupo sem SM. Considerando a mediana, a HCY, a PCRus e a IL-6 eram mais altas no grupo com SM, enquanto o TAS era ligeiramente mais baixo. (Isto deve-se à distribuição não normal dos valores obtidos, com a presença de valores extremos a afetar de modo importante o valor médio).

Tabela 21. Diferenças significativas na população infetada por VIH, sem SM e com SM

		Síndrome metabólico		p
		Não	Sim	
Idade (anos)	n	154	45	0,037
	med ( $\pm$ DP)	45,1 ( $\pm$ 11,3)	48,9 ( $\pm$ 10,9)	
	Me (P25-P75)	43 (37-51)	48 (41-57,5)	
	Min-Max	15-89	28-71	
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	Peso normal (18,5-24,9)	81 (58,3%)	6 (15%)	0,000
	Baixo peso (<18,5)	6 (4,3%)	0 (0%)	
	Excesso peso (25,0-29,9)	41 (29,5%)	24 (60%)	
	Obesidade ( $\geq$ 30,0)	11 (7,9%)	10 (25%)	
	Total	139 (100%)	40 (100%)	
Triglicerídeos (mg/dL)	n	149	46	<0,01
	med ( $\pm$ DP)	136,2 ( $\pm$ 79,2)	222,5 ( $\pm$ 106,1)	
	Me (P25-P75)	117 (79,5-162)	201 (142-267,3)	
	Min-Max	34-481	99-580	
Colesterol-HDL (mg/dL)	n	148	46	<0,001
	med ( $\pm$ DP)	49,7 ( $\pm$ 16,7)	36,6 ( $\pm$ 9,2)	
	Me (P25-P75)	47 (38-59)	36,5 (29,8-43,3)	
	Min-Max	19-105	20-58	
HOMA	n	142	40	<0,001
	med ( $\pm$ DP)	2,1 ( $\pm$ 2,5)	5 ( $\pm$ 6,8)	
	Me (P25-P75)	1,4 (0,9-2,1)	2,3 (1,2-5,9)	
	Min-Max	0,3-17,4	0,5-29,3	
Insulina (pg/mL)	n	144	40	0,002
	med ( $\pm$ DP)	9,3 ( $\pm$ 9,3)	17,1 ( $\pm$ 19,8)	
	Me (P25-P75)	6,5 (4-10)	8,1 (5,8-21,6)	
	Min-Max	1,3-54,2	2,3-88,5	
Razão CT/HDL	n	144	45	<0,001
	med ( $\pm$ DP)	4 ( $\pm$ 1,4)	5,7 ( $\pm$ 2)	
	Me (P25-P75)	3,8 (3-5)	5,3 (4,5-6,6)	
Glicose (mg/dL)	n	153	46	<0,001
	med( $\pm$ DP)	88,1 ( $\pm$ 15,3)	105,4 ( $\pm$ 28,2)	
	Me (P25-P75)	86 (80-95)	98 (84-116)	
	Min-Max	48-161	54-199	
Cu ( $\mu$ g/L)	n	65	15	0,054**
	med ( $\pm$ DP)	1099,6 ( $\pm$ 176,6)	1000,3 ( $\pm$ 177,4)	
	Me (P25-P75)	1113,4 (969,5-1195,8)	959,5 (855,2-1064,8)	
	Min-Max	704,3-1686,3	815,3-1410,8	

med( $\pm$ DP): média ( $\pm$  desvio padrão); Me (P25-75): mediana (Percentil 25-75); n(%): Min-Max: mínimo-máximo; número (percentagem); IMC: Índice de Massa Corporal; CT: colesterol total; HDL: lipoproteínas de alta densidade; HOMA: *Homeostatic Model Assessment*; Cu: Cobre, \* teste de Mann-Whitney, \*\*teste t-Student

Como já foi referido, resolveu separa-se também os indivíduos que já cumpriam 2 critérios de classificação para SM dos sem SM, uma vez que a curto prazo irão provavelmente estar mais próximos (ou no) grupo dos com SM. Assim, foi realizada a análise estatística de alguns parâmetros separando a amostra total em três grupos: “sem

SM” (0 ou apenas 1 critério, sem SM mas com 2 fatores de classificação (“grupo de risco”) e “com SM” (Tabela 24).

Tabela 22. Diferenças na população infetada por VIH, sem SM e com SM

		Síndrome metabólico		p
		Não	Sim	
<b>Sexo</b>	Feminino, n (%)	48 (31%)	13 (28,3%)	0,726*
	Masculino, n (%)	107 (69%)	33 (71,7%)	
	Total	155 (100%)	46 (100%)	
<b>Estado civil</b>	Casado, n (%)	46 (41,1%)	18 (66,7%)	0,111*
	Solteiro, n (%)	46 (41,1%)	7 (25,0%)	
	Divorciado, n (%)	18 (16,1%)	2 (7,4%)	
	Viúvo, n (%)	2 (1,8%)	1 (0,007%)	
	Total	112 (100%)	27 (100%)	
<b>Lipodistrofia</b>	Não	46 (59,7%)	19 (67,9%)	0,449
	Sim	31 (40,3%)	9 (32,1%)	
	Total	77 (100%)	28 (100%)	
<b>Colesterol total (mg/dL)</b>	n	147	45	0,204
	med (±DP)	185,5 (±43)	197,1 (±43,8)	
	Me (P25-P75)	187 (157-215)	190 (160-234)	
	Min-Max	82-304	128-275	
<b>Perímetro abdominal (cm)</b>	n	7	10	0,353
	med (±DP)	92,4 (±9,9)	97,6 (±8,9)	
	Me (P25-P75)	91 (86-94)	96,5 (88,8-105,5)	
	Min-Max	80-112	87-110	
<b>Coinfeção HCV/HBV</b>	Não	102 (65,8%)	30 (65,2%)	0,941
	Sim	53 (34,2%)	16 (34,8%)	
	Total	155 (100%)	46 (100)	
<b>Terapêutica HAART</b>	Sem terapia, n (%)	16 (11%)	3 (8,1%)	0,650*
	INRT+INNRT, n (%)	67 (45,9%)	15 (40,5%)	
	INRT+PI, n (%)	63 (43,2%)	19 (51,4%)	
	Total	146 (100%)	37 (100%)	
<b>CD4 (cel/mm<sup>3</sup>)</b>	n	154	45	0,747
	med (±DP)	539,4 (±305,5)	526,2 (±213,9)	
	Me (P25-P75)	489 (325,5-695,3)	532 (369,5-635)	
	Min-Max	9-1551	106-1163	
<b>CV (10<sup>3</sup> cóp. ARN/ml)</b>	n	76	20	0,516
	med (±DP)	95,3 (±759,4)	8,5 (±37,6)	
	Me (P25-P75)	0 (0-0,1)	0 (0-0,1)	
	Min-Max	0-6620	0-168,2	

med(±DP): média (±desvio padrão); Me (AIQ): mediana (amplitude inter-quartil); n (%): número (percentagem); CD4: linfócitos T CD4 +/-milímetro cúbico de sangue; CV: carga vírica; HCV: vírus da hepatite C; HBV: vírus da hepatite B; cóp. ARN/mm<sup>3</sup>L: cópias de ácido ribonucleico por milímetro cúbico de sangue; cel/mm<sup>3</sup>: células por milímetro cúbico de sangue; \* teste qui-quadrado; \*\*outros testes: teste de Mann-Whitney.



Tabela 23. Comparação da população infetada sem SM e com SM relativamente aos marcadores de inflamação e ao TAS

		Síndrome metabólico		p
		Não	Sim	
<b>PCRus (mg/dL)</b>	n	68	19	0,681
	med (±DP)	6,0 (±15,4)	3,9 (±4,1)	
	Me (P25-P75)	2,1 (0,9-5,4)	2,5 (1-4,9)	
	Min-Max	0,2-115,4	0,2-13	
<b>IL-6 (pg/mL)</b>	n	64	14	0,488
	med (±DP)	5,7 (±12,9)	3,2 (±0,8)	
	Me (P25-P75)	2,8 (1,7-4,8)	3,4 (2,8-3,8)	
	Min-Max	1,5-99,7	1,5-4,6	
<b>TAS (mmol/L)</b>	n	139	34	0,941
	med (±DP)	1,4 (±0,6)	1,4 (±0,5)	
	Me (P25-P75)	1,5 (1-1,9)	1,3 (1-1,9)	
	Min-Max	0,2-2,5	0,3-2,2	
<b>HCY (μmol/L)</b>	n	65	15	0,973**
	med (±DP)	15 (±4,9)	15 (±4,7)	
	Me (P25-P75)	14,5 (11,6-18,3)	14,8 (11,3-16,1)	
	Min-Max	7,3-32,2	8,9-27,3	
<b>Zn (μg/L)</b>	n	65	15	0,967**
	med (±DP)	7498 (±1045)	7484,7 (±1432,7)	
	Me (P25-P75)	7414 (6794,1-8276,5)	7800 (6724-8542,8)	
	Min-Max	5051,2-10331,2	5050,8-9872,8	
<b>Se (μg/L)</b>	n	65	15	0,800**
	med (±DP)	153 (±26,5)	155,1 (±34,8)	
	Me (P25-P75)	148,2 (131,5-169,4)	147,4 (134,9-177,7)	
	Min-Max	110,2-233,2	105,2-223,5	
<b>Mn (μg/L)</b>	n	63	15	0,383**
	med (±DP)	8,5 (±2,5)	8 (±1,3)	
	Me (P25-P75)	8,3 (6,9-10,1)	8 (6,8-8,9)	
	Min-Max	3,6-15,4	6-10,4	

Med (±DP): média (± desvio padrão); Me (AIQ): mediana (amplitude inter-quartil); n (%): número (percentagem), IL-6: interleucina 6; TAS: status antioxidante total; Mn: manganês; HCY: Homocisteína; Cu: cobre; Zn: zinco; Se: selénio; PCRus: proteína C reativa ultrasensível; teste de Mann-Whitney; \*\* teste t

Tabela 24. Comparação dos diferentes grupos de SM quanto aos marcadores de inflamação, capacidade antioxidante e estágio da infecção

		Classificação de Síndrome Metabólico			p
		Não SM	2 critérios de SM (Risco)	Com SM	
<b>Índice HOMA</b>	med (±DP)	2,00 (±2,32)	2,16 (±2,88)	4,97 (±6,83)	0,001
	Mediana	1,27	1,33	1,87	
	n	97	45	40	
<b>PCRus (mg/dL)</b>	med (±DP)	3,67 (±8,2)	10,96 (±30,17)	3,91 (±4,13)	0,223
	Mediana	1,81	2,5	2,5	
	n	54	14	19	
<b>IL-6 (pg/mL)</b>	med (±DP)	6,36 (±14,07)	2,66 (±1,18)	3,25 (±0,84)	0,638
	Mediana	2,90	2,21	3,42	
	n	53	11	14	
<b>TAS (mmol/L)</b>	med (±DP)	1,51 (±0,56)	1,19 (±0,87)*	1,41 (±0,91)	0,024
	Mediana	1,77	1,03	1,27	
	n	98	41	34	
<b>HCY (μmol/L)</b>	med (±DP)	14,49 (±4,77)	17,39 (±5,06)	15,03 (±4,69)	0,189
	Mediana	13,84	16,47	14,84	
	n	54	11	15	
<b>CD4 (cel/mm<sup>3</sup>)</b>	med (±DP)	522 (±307,7)	577 (±225)	526 (±213)	0,536
	Mediana	473	517	532	
	n	105	49	45	
<b>CV/1000 (cópias ARN/mL)</b>	med (±DP)	74,72 (±64,64)	7,41 (±32,0)	4,97 (±25,91)	0,183
	Mediana	20,00	20,00	20,00	
	n	105	49	45	

med (95%IC): média (Intervalo de confiança 95%); IL-6: interleucina 6; TAS: *status* antioxidante total; Mn: manganês; HCY: Homocisteína; PCRus: proteína C reativa ultrasensível; n: número; med (±DP); HOMA: *Homeostatic Model Assessment*; CD4: linfócitos T CD4+; CV: carga vírica; Kruskal-wallis, \*teste de Mann-Whitney.

Com esta separação, foi identificada uma diferença significativa quanto ao TAS ( $p=0,024$ ), com o menor valor médio a observar-se nos indivíduos que tinham 2 critérios para SM ( $1,19 \pm 0,87$  mmol/L)

Para a PCRus, o valor médio mais elevado [ $10,96 (\pm 30,17)$  mg/dL] também se observou no grupo com 2 critérios de classificação, seguido do grupo com SM. O mais elevado valor médio de PCRus naquele “grupo de risco” deveu-se a presença de alguns valores anormalmente elevados. Considerando o valor mediano, o nível de PCRus era, nesse caso, semelhante ao do grupo com SM.

O grupo com 2 critérios de classificação para SM apresentava também os maiores valores de HCY:  $17,39 (\pm 5,06)$  μmol/L, os maiores valores de CD4 [ $577 (\pm 225)$  cel/mm<sup>3</sup>;  $p=0,536$ ] e os menores valores de IL-6 [ $2,66 (\pm 1,18)$  pg/mL;  $p=0,638$ ]. Em relação ao HOMA, o valor manteve-se significativamente mais elevado no grupo com SM [ $4,97 (\pm 6,83)$ ;  $p=0,001$ ], seguido do “grupo de risco” [ $2,16 (\pm 2,88)$ ].

Paralelamente foi também realizada uma análise univariada e multivariada (Tabelas 25 e 26) de toda a amostra de modo a identificar os fatores que se poderiam relacionar com valores de glicose > 110 mg/dL e de TG > 150 mg/dL.

Na análise univariada, a idade superior a 39 anos ( $p=0,033$ ), o tempo de infecção > 10 anos ( $p=0,001$ ), a HAART ( $p=0,006$ ), a CV não suprimida ( $p=0,024$ ), os CD4 > 200 cel/mm<sup>3</sup> ( $p=0,006$ ) e, naturalmente, o HOMA ( $p=0,000$ ) mostraram influenciar significativamente a probabilidade de uma glicemia > 110 mg/dL nestes doentes (Tabela 25).

Os que apresentavam um índice HOMA >3 tinham uma probabilidade cerca de 11 vezes superior à dos que não tinham RI de apresentar uma glicose > 110 mg/dL [OR (IC95%): 13,18 (5,268-32,986);  $p=0,000$ ].

Em relação à idade, por exemplo, o facto de ultrapassar os 39 anos mostrou conferir uma probabilidade 2,84 vezes superior de ter glicose > 110 mg/dL [OR (IC95%): 2,84 (1,05-7,67);  $p=0,033$ ] em relação aos indivíduos com idade inferior a 39 anos.

Os indivíduos infetados com valores de CD4  $\geq$  200 cel/mm<sup>3</sup> apresentaram uma probabilidade significativa, 4,23 vezes superior, de ter glicose > 110 mg/dL [OR (IC 95%): 4,229 (1,416-12,626);  $p=0,006$ ] em relação aos restantes. A concentração de Mn inferior a 7 µg/L aumentava em cerca de 9 vezes a probabilidade de glicose >110 mg/dL, uma diferença em relação aos restantes (Mn > 7 µg/L) quase a atingir significado estatístico ( $p=0,057$ ). Concentrações de TG > 150 mg/dL e de PCRus > 0,5 mg/dL, embora não significativamente, também mostraram aumentar a probabilidade de glicose > 110 mg/dL.

Tabela 25. Análise logística univariada de fatores associados a glicose &gt;110 mg/dL

		<b>Glicose (mg/dL)</b>		<b>p</b>	<b>OR</b>	<b>IC95%</b>
		<b>≤110</b>	<b>&gt;110</b>			
<b>Sexo</b>	Feminino	66 (31%)	10 (30,3%)	0,937	1	0,465-2,292
	Masculino	147 (69%)	23 (69,7%)		1,033	
<b>Idade (anos)</b>	<39 anos	71 (33,6%)	5 (15,2%)	0,033	1	1,052-7,67
	≥39 anos	140 (66,4%)	28 (84,8%)		2,840	
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	Normal ou baixo (≤24,9)	99 (55,3%)	9 (36%)	0,070	1	0,923-5,242
	Elevado ou obesidade (≥25,0)	80 (44,7%)	16 (64%)		2,200	
<b>Triglicerídeos (mg/dL)</b>	≤150	105 (62,5%)	16 (53,3%)	0,343	1	0,667-3,189
	>150	63 (37,5%)	14 (46,7%)		1,458	
<b>Terapêutica HAART</b>	Não	81 (40,3%)	5 (18,5%)	0,006	1	1,411-11,551
	Sim	68 (33,8%)	20 (74,1%)		4,036	
<b>Tempo infecção (anos)</b>	≤10anos	138 (72,3%)	9 (39,1%)	0,001	1	1,655-9,915
	>10anos	53 (27,7%)	14 (60,9%)		4,050	
<b>CV (Cópias ARN/mm<sup>3</sup>)</b>	≤50	130 (61,6%)	27 (81,8%)	0,024	1	0,141-0,901
	>50	81 (38,4%)	6 (18,2%)		0,357	
<b>CD4 (cel/mm<sup>3</sup>)</b>	<200	148 (91,4%)	15 (71,4%)	0,006	1	1,416-12,626
	≥200	14 (8,6%)	6 (28,6%)		4,229	
<b>Índice HOMA</b>	≤3	145 (86,8%)	9 (33,3%)	0,000	1	5,268-32,986
	>3	22 (13,2%)	18 (66,7%)		13,182	
<b>PCRus (mg/dL)</b>	≤0,5	10 (13,9%)	2 (13,3%)	0,955	1	0,205-5,36
	>0,5	62 (86,1%)	13 (86,7%)		1,048	
<b>TAS (mmol/L)</b>	<1,33	78 (51%)	13 (61,9%)	0,347	1	0,251-1,632
	≥1,33	75 (49%)	8 (38,1%)		0,640	
<b>Mn (µg/L)</b>	≥7	56 (75,7%)	1 (25%)	0,057	1	0,913-95,415
	<7	18 (24,3%)	3 (75%)		9,333	

INRT: Inibidores Nucleosídeos da Transcriptase Reversa; INNRT: Inibidores Não Nucleosídeos da Transcriptase Reversa; IP: Inibidores da protease; IL-6: interleucina 6; TAS: *status* antioxidante total; Mn: manganês; HCY: Homocisteína; PCRus: proteína C reativa ultrassensível; HOMA: *Homeostatic Model Assessment*; CD4: linfócitos TCD4+; CV: carga vírica; OR: Odds Ratio; IC 95%: Intervalo de confiança; teste Qui-quadrado.

Tabela 26. Modelo Variar 1\* – Análise logística multivariada de fatores independentemente associados a glicose >110 mg/dL para todos os pacientes

<b>Glicose&gt;110 mg/dL</b>	<b>p</b>	<b>OR</b>	<b>IC95% OR</b>
<b>HAART (INRT+INNRT vs. INRT+IP)</b>	0,019	5,025	1,297-19,468
<b>IMC (por unidade)</b>	0,030	1,186	1,016-1,383
<b>Tempo (por ano)</b>	0,107	1,104	0,979-1,244
<b>Constante</b>	0,000	0,000	

\*Este modelo de regressão logística prevê 91,2% de resultados corretos.

Qualidade do modelo: -2 Log likelihood = 81,830; Cox & Snell  $R^2=0,098$ ; Nagelkerke  $R^2=0,204$ ; p (Hosmer and Lemeshow) = 0,312; AUC (área sob a curva) = 0,771 (IC95%: 0,646-0,895).

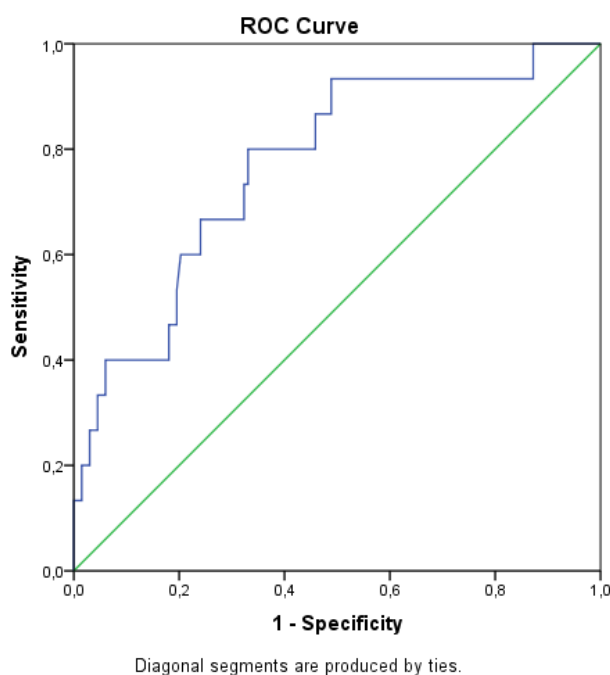


Figura 9. Curva ROC para a análise multivariada de fatores de risco para glicose elevada segundo o modelo de regressão logística multivariada de fatores independentemente associados a glicose >110 mg/dL

Na análise multivariada (Tabela 26, Figura 9), onde não foi incluído o índice HOMA, pela evidência da sua relação com valores elevados de glicose, foram revelados como fatores de risco independentes e significativamente associados a concentrações de glicose > 110 mg/dL, o IMC e a HAART com a associação INRT+INNRT.

Neste modelo, que prevê 91,2% de resultados corretos, verificou-se que o aumento em uma unidade no IMC torna 1,2 vezes maior ( $p=0,030$ ) a probabilidade de se ter níveis de glicose  $> 110$  mg/dL.

Por sua vez, o tratamento com a associação INRT+INNRT parece aumentar em 5 vezes a probabilidade de uma glicemia  $> 110$  mg/dL em relação aos doentes que tomam INRT+IP.

O modelo estatístico reteve também o tempo de infecção, e embora sem significado estatístico ( $p=0,107$ ), observou-se que aquele aumenta em 1,104 vezes a probabilidade de glicose  $> 110$  mg/dL.

Para se prever quais os fatores de risco para TG elevados, aplicou-se uma análise univariada para TG  $>150$  mg/dL (Tabela 27).

Embora sem significado estatístico, revelaram-se fatores de maior probabilidade: i) sexo masculino, ii) idade  $>50$  anos, iii) presença de lipodistrofia, iv) HAART com IP, v) insulinoresistência, vi) PCRus  $>0,5$  mg/L. Um TAS baixo, definido com um valor  $<1,33$  mmol/L, revelou-se quase significativo para uma maior probabilidade de TG  $>150$  mg/dL [OR (IC95%):1,853 (0,992-3,462);  $p=0,052$ ].

Na análise multivariada (Tabela 28), apenas o IMC mostrou ser fator de risco, significativo e independente para TG  $>150$  mg/dL, ou seja, na amostra estudada, ter excesso de peso ou ser obeso mostrou conferir uma probabilidade 2,4 vezes superior de ter TG  $>150$  mg/dL em relação aos indivíduos com IMC normal ou baixo [OR (IC95%): 2,147 (1,093-5,344);  $p=0,029$ ].

Tabela 27. Análise logística univariada de fatores associados a TG &gt;150 mg/dL

		Triglicerídeos (mg/dL)		p	OR	IC95%
		≤150	>150			
<b>Sexo</b>	Feminino	38 (31,4%)	21 (27,3%)	0,535	1	1,221 0,649-2,296
	Masculino	83 (68,6%)	56 (72,7%)			
<b>Idade (anos)</b>	<50 anos	85 (70,8%)	51 (67,1%)	0,581	1	1,190 0,641-2,212
	≥50 anos	35 (29,2%)	25 (41,7%)			
<b>IMC</b>	Normal ou Baixo (≤24,9)	59 (55,1%)	31 (46,3%)	0,254	1	1,427 0,773-2,635
	Elevado ou Obesidade (≥25,0)	48 (44,9%)	36 (53,7%)			
<b>Lipodistrofia</b>	Não	34 (64,2%)	31 (60,8%)	0,723	1	1,154 0,522-2,555
	Sim	19 (35,8%)	20 (39,2%)			
<b>Terapêutica HAART</b>	INRT+INNRT	52 (54,2%)	27 (41,5%)	0,116	1	1,663 0,881-3,142
	INRT+PI	44 (45,8%)	38 (58,5%)			
<b>Tempo</b>	≤10anos	62 (62,0%)	40 (60,6%)	0,857	1	1,061 0,560-2,007
	>10anos	38 (38,0%)	26 (39,4%)			
<b>Coinfeção HCV/HBV</b>	não	79 (65,3%)	50 (64,9%)	0,959	1	1,016 0,558-1,850
	sim	42 (34,7%)	27 (35,1%)			
<b>CV (cópias ARN/mm<sup>3</sup>)</b>	≤50	86 (71,1%)	63 (82,9%)	0,060	1	0,507 0,248-1,036
	>50	35 (28,9%)	13 (17,1%)			
<b>CD4 (cel/mm<sup>3</sup>)</b>	<200	68 (86,1%)	53 (94,6%)	0,108	1	0,350 0,093-1,318
	≥200	11 (13,9%)	3 (5,4%)			
<b>HOMA</b>	≤3	87 (79,8%)	56 (39,2%)	0,742	1	1,130 0,547-2,336
	>3	22 (20,2%)	16 (22,2%)			
<b>PCRus (mg/dL)</b>	≤0,5	9 (14,8%)	3 (11,5%)	0,491	1	1,327 0,329-5,358
	>0,5	52 (85,2%)	23 (88,5%)			
<b>IL-6 (pg/mL)</b>	<7	49 (87,5%)	21 (95,5%)	0,278	1	0,333 0,039-2,881
	≥7	7 (12,5%)	1 (4,5%)			
<b>TAS (mmol/L)</b>	≥1,33	61 (59,2%)	29 (43,9%)	0,052	1	1,853 0,992-3,462
	<1,33	42 (40,8%)	37 (56,1%)			

INRT: Inibidores Nucleosídeos da Transcriptase Reversa; INNRT: Inibidores Não Nucleosídeos da Transcriptase Reversa; IP: Inibidores da protease; IL-6: interleucina 6; TAS: *status* antioxidante total; Mn: manganês; HCY: homocisteína; PCRus: proteína C reativa ultrassensível; HOMA: *Homeostatic Model Assessment*; CD4: linfócitos T CD4+; CV: carga vírica; OR: Odds Ratio; IC 95%: Intervalo de confiança; teste Qui-quadrado

Tabela 28. Modelo Variar 1\* – Análise logística multivariada de fatores independentemente associados a TG >150 mg/dL para todos os pacientes

Triglicerídeos >150 mg/dL	p	OR	IC95%
<b>IMC Elevado ou Obesidade (<math>\geq 25,0</math>)</b>	0,029	2,417	1,093-5,344
<b>CD4 &gt;200</b>	0,150	0,303	0,060-1,542
<b>Constante</b>	0,070	0,602	

\* Este modelo prevê 72,5% de resultados corretos

Qualidade do modelo: -2 Log likelihood = 139,366; Cox & Snell  $R^2=0,071$ ; Nagelkerke  $R^2=0,094$ ; (Hosmer and Lemeshow)  $p=0,973$ ; AUC (área sob a curva) = 0,622 (IC95%: 0,523-0,722).

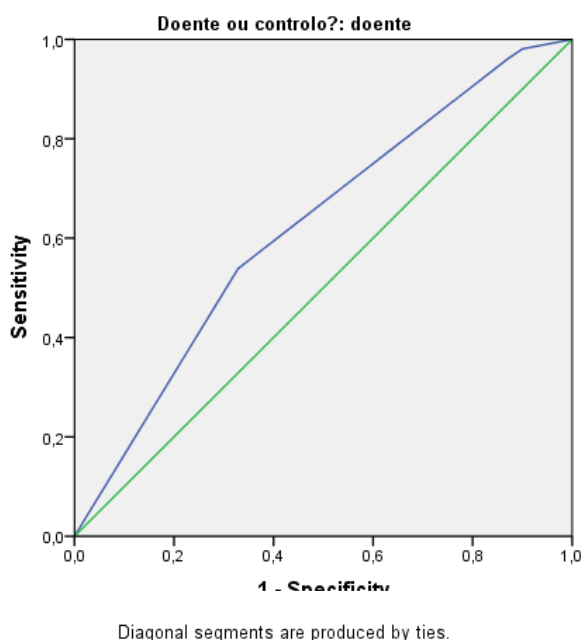


Figura 10. Curva ROC para análise multivariada de fatores de risco para triglicerídeos altos, segundo o modelo de regressão logística multivariada de fatores independentemente associados a TG >150 mg/dL

O modelo multivariado de regressão logística (Tabela 29) mostrou que o índice HOMA >3 era o único fator de risco significativo e independentemente associado ao desenvolvimento de SM na amostra de indivíduos infetados estudada [OR (IC95%): 2,925 (1,28-6,68);  $p=0,011$ ].

A CV, que também foi retida pelo modelo, diz-nos que, quando a atividade replicativa do vírus aumentar significativamente, saindo a infecção por VIH do estado



latente e crónico, a probabilidade do infetado desenvolver SM será cerca de 65% inferior à dos que estão virologicamente suprimidos [OR (IC95%): 0,351 (0,125-0,983); p=0,046].

Por trás de tudo isto estarão, como potenciadores, segundo a análise univariada (Tabela 30, Figura 11), e confirmando o que se tem dito ao longo desta dissertação, a idade >30 anos, aumentando a probabilidade após os 50 anos [OR (IC95%): 1,949 (0,978-3,884); p=0,056]; a coinfeção por HCV, a PCRus, o TAS, o tempo de infeção (mais que 10 anos); os CD4 e a terapêutica HAART, com maior probabilidade para os IP.

Tabela 29. Modelo de regressão logística multivariável\* para factores associados a SM

<b>Variáveis</b>	<b>p</b>	<b>OR</b>	<b>(IC 95%)</b>
<b>HOMA &gt;3</b>	0,011	2,925	1,280-6,684
<b>CV &gt;50 (cópias ARN/mL)</b>	0,046	0,351	0,125-0,983
<b>Constante</b>	0,000	0,263	

\* O modelo prevê corretamente 78,3% de resultados.

Qualidade do modelo: -2 Log likelihood = 177,889; (Cox & Snell) = 0,055, Nagelkerke R<sup>2</sup> = 0,086; p (Hosmer and Lemeshow) = 0,634; AUC (área sob a curva) = 0,645 (IC95%:0,550-0,740)

Tabela 30. Análise univariada para risco de SM

		<b>Síndrome metabólico</b>		<b>p</b>	<b>OR</b>	<b>IC95%</b>
		<b>Não</b>	<b>Sim</b>			
<b>Sexo</b>	Feminino	48 (31%)	13 (28,3%)	0,726	1	0,551-2,355
	Masculino	107 (69%)	33 (71,7%)		1,139	
	Total	155 (100%)	46 (100%)			
<b>Idade (anos)</b>	<50 anos	112 (72,7%)	26 (57,8%)	0,056	1	0,978-3,884
	≥50 anos	42 (27,3%)	19 (42,2%)		1,949	
	Total	154 (100%)	45 (100%)			
<b>Idade (anos)</b>	<40 anos	50 (32,5%)	9 (20%)	0,107	1	0,86-4,299
	≥40 anos	104 (67,5%)	36 (80%)		1,923	
	Total	154 (100%)	45 (100%)			
<b>Idade (anos)</b>	<39 anos	44 (28,6%)	7 (15,6%)	0,079	1	0,902-5,228
	≥39 anos	110 (71,4%)	38 (84,4%)		2,171	
	Total	154 (100%)	45 (100%)			
<b>Colesterol total (mg/dL)</b>	<190	77 (52,4%)	22 (48,9%)	0,682	1	0,59-2,243
	≥190	70 (47,6%)	23 (51,1%)		1,150	
	Total	147 (100%)	45 (100%)			
<b>Esquema HAART</b>	NRT+INNRT	67 (51,5%)	15 (44,1%)	0,441	1	0,63-2,879
	INRT+ IP	63 (48,5%)	19 (55,9%)		1,347	
	Total	130 (100%)	34 (100%)			
<b>HAART</b>	Não toma INRT+INNRT ou INRT+ IP	16 (11%)	3 (8,1%)	0,612	1	0,384-5,065
		130 (89%)	34 (91,9%)		1,395	
	Total	146 (100%)	37 (100%)			
<b>Coinfeção HCV</b>	Não	102 (65,8%)	30 (65,2%)	0,941	1	0,514-2,05
	Sim	53 (34,2%)	16 (34,8%)		1,026	
	Total	155 (100%)	46 (100%)			
<b>Tempo Infecção</b>	≤10anos	88 (64,7%)	20 (60,6%)	0,660	1	0,545-2,604
	>10anos	48 (35,3%)	13 (39,4%)		1,192	
	Total	136 (100%)	33 (100%)			
<b>Carga vírica (cópias ARN/mm<sup>3</sup>)</b>	≤50	110 (71,4%)	39 (86,7%)	0,038	1	0,152-0,973
	>50	44 (28,6%)	6 (13,3%)		0,385	
	Total	154 (100%)	45 (100%)			
<b>CD4 (cel/mm<sup>3</sup>)</b>	<200	95 (87,2%)	27 (93,1%)	0,374	1	0,108-2,349
	≥200	14 (12,8%)	2 (6,9%)		1,003	
	Total	109 (100%)	29 (100%)			
<b>HOMA</b>	≤3	120 (84,5%)	26 (65%)	0,006	1	1,329-6,491
	>3	22 (15,5%)	14 (35%)		2,937	
	Total	142 (100%)	40 (100%)			
<b>PCR (mg/dL)</b>	≤0,5	10 (14,7%)	2 (10,5%)	0,640	1	0,292-7,343
	>0,5	58 (85,3%)	17 (89,5%)		1,466	
	Total	68 (100%)	19 (100%)			
<b>TAS (mmol/L)</b>	≥1,33	76 (54,7%)	16 (47,1%)	0,425	1	0,64-2,878
	<1,33	63 (45,3%)	18 (52,9%)		1,357	
	Total	139 (100%)	34 (100%)			

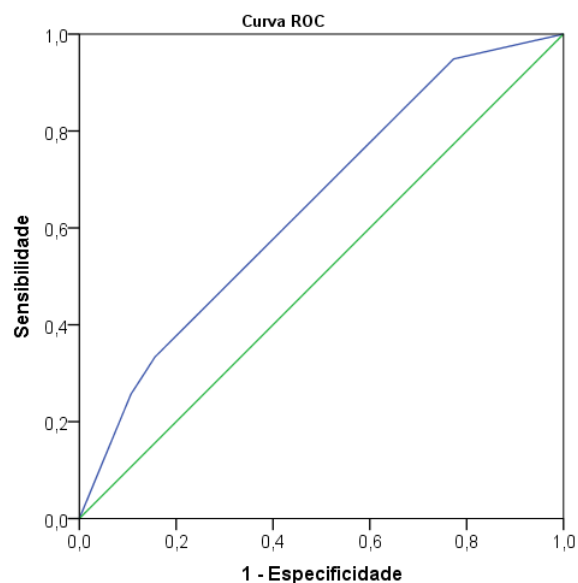


Figura 11. Curva ROC para análise logística univariada de factores independentemente associados ao SM

Fazendo a análise de risco de SM pelo número de critérios cumpridos, a idade ( $p=0,012$ ) a HAART com IP ( $p=0,019$ ) e o TAS ( $p=0,002$ ) foram os fatores de maior probabilidade de desenvolvimento de SM nesta amostra (Tabela 31).

Tabela 31. Análise univariada para risco de SM conforme número de critérios

		<b>Zero ou 1 critério</b>	<b>2 ou mais critérios</b>	<b>p</b>	<b>OR</b>	<b>IC95% OR</b>
<b>Idade (anos)</b>	<50 anos	81 (77,1%)	57 (60,6%)	0,012	1	
	≥50 anos	24 (22,9%)	37 (39,4%)		2,191	1,184-4,054
<b>Terapêutica HAART</b>	INRT+INNRT	52 (58,4%)	30 (40%)	0,019	1	
	INRT+IP	37 (41,6%)	45 (60%)		2,108	1,128-3,94
	Total	89 (100%)	75 (100%)			
<b>TAS (mmol/L)</b>	≥1,33	62 (63,3%)	30 (40%)	0,002	1	
	<1,33	36 (36,7%)	45 (60%)		2,583	1,392-4,793
	Total	98 (100%)	75 (100%)			

#### 8.4.2 Discussão

Como se referiu na Introdução, a divergência entre as diversas organizações / entidades quanto aos critérios para definir SM deu origem a várias normas de

classificação [14,262,263]. A última proposta para uma harmonização desses critérios está expressa na declaração conjunta (*Joint Interim Statement*), de 2009, da *International Diabetes Federation, National Heart, Lung, and Blood Institute, American Heart Association, World Heart Federation, International Atherosclerosis Society* e *International Association for the Study of Obesity*, e nela são sugeridos pontos de corte para diversas avaliações relativas à obesidade, ajustados a distintos grupos étnicos [16,17]

Quando se avalia a prevalência de SM numa mesma população segundo diferentes normas, obtêm-se valores diferentes [389-391]. Nos estudos até agora publicados, os autores recorreram, na maioria dos casos, às normas do *Adult Treatment Panel III* (ATP III) do *National Cholesterol Education Program* (NCEP), dos EUA, facto que nos levou a adoptá-las também, para melhor comparabilidade das observações e facilidade de discussão.

Estudos mais recentes na população em geral calculam já os valores segundo as diferentes normas. Assim, um estudo realizado em adultos com mais de 20 anos no Qatar entre abril de 2011 e dezembro de 2012 [392] concluiu que a prevalência de SM era de 26,2% seguindo os critérios ATP III e de 36,9% de acordo com os critérios da IDF. Neste estudo, os participantes classificados com SM incluíam os mais idosos, mulheres, aposentados e os não ativos.

Outro estudo, realizado por Mora García e colaboradores em 2012 avaliou o SM em 670 adultos. Feito o ajuste para o sexo e idade, a prevalência de SM encontrada era, dependendo das normas de classificação adotadas, de 43,2% (JIS), 41,9% (IDF), 35,3% (AHA/NHLBI), 29,6% (ATP III) e 7,5% (OMS) [393]. Recentemente, num estudo realizado em mulheres rurais, em pós-menopausa e sem terapia hormonal de substituição, os autores encontraram valores de prevalência de SM de 38,4%, 28,8% e 37,1% conforme se considerassem os critérios de JIS, IDF ou ATP III [394], o que demonstra que o perímetro abdominal deverá ser ajustado ao grupo étnico em causa, sob pena de em alguns casos os valores encontrados serem subestimados.

No presente estudo foi encontrada, entre os indivíduos infetados com VIH, uma prevalência de SM de 22,9%, mas com 31,0% dos indivíduos SM negativos a cumprirem já 2 dos critérios de classificação. Verificamos, também, na comparação entre os 2 grupos (com e sem SM), não existir diferença significativa no perímetro abdominal, o que é uma observação estranha, uma vez que aquele é um importante fator de classificação. Esta última constatação prova que a prevalência de SM poderá estar subestimada em relação às normas (Tabela 1) que colocam o *cut-off* do perímetro abdominal ajustado a

diferentes etnias ou que o aumento do perímetro abdominal não é um fator a considerar no caso dos indivíduos infectados por VIH.

Lauda *et al.*, em 2011 concluíram que 20,9% dos infetados com VIH tinham síndrome metabólica, e à semelhança do que acontecia na população em geral, encontrou também valores mais elevados nas mulheres: 23,5% *versus* 18,5% nos homens, sem diferença estatística entre os sexos [395]. Pelo contrário, Fernandez *et al.*, em Espanha, num estudo que envolveu 2833 participantes distribuídos equitativamente quanto ao sexo (46,5% homens), encontraram uma prevalência de SM superior nos homens: 33,6% *versus* 30,9% nas mulheres. Este estudo também sublinha as diferenças nos resultados obtidos consoante as normas adotadas e refere a idade como critério significativo, particularmente a faixa etária dos 45-54 anos para indivíduos do sexo masculino e dos 55-64 anos para indivíduos do sexo feminino [396]. A mesma ideia partilham Lassale *et al.*, em França, em que concluíram que o sexo feminino tinha uma propensão duas vezes menor para ter excesso de peso (18,6% *vs.* 35,7%,  $p < 0,0001$ ) e SM (9,5% *vs.* 18,9% ( $p < 0,0001$ ) que os homens [397]. A idade é um fator consensual e apontado no estudo de Onat, na Turquia, onde situaram a prevalência média de SM nos 53% e calcularam um aumento de 1,3% na prevalência por cada ano na idade acima dos 40 anos [398]. O nosso estudo corrobora estes trabalhos pelo facto de termos mais homens e mais idosos ( $p=0,037$ ) no grupo com SM.

Aneja *et al.*, na Índia, estudaram uma questão diferente e compararam grupos de indivíduos alcoólicos com a população saudável, tendo concluído que os dependentes de álcool apresentavam uma menor prevalência de SM: 27% e 18% em dois grupos alcoólicos, contra 30% e 20% nos grupos de controlo [399].

Em relação aos infetados por VIH, os estudos disponíveis apontam prevalências que variam entre 7,4% e 27% [400-403], mas há quem referira valores de 45% [404]. Na maioria dos estudos foram usadas, tal como no nosso, as normas do ATP III [400-403], mas alguns deles fazem já uma avaliação conjunta conforme as diferentes normas. Wand *et al.* (2007) encontraram prevalências de SM de 8,5% e 7,8% conforme fossem usadas as normas ATP III ou IDF, respetivamente [403]. Os nossos resultados, obtidos seguindo os critérios do ATP III, estão de acordo com os estudos disponíveis.

Muitos autores encontraram prevalências de SM mais elevadas nos indivíduos infetados que na população comum sem que tivessem encontrado uma relação com a terapia para o maior risco de SM nesta população [363,404-406]. Mondy *et al.*, 2007, referem valores de 25,5% para infetados em comparação com 26,5% para a população não infectada, ou seja, embora elevados, as taxas de prevalência de SM nos indivíduos

infetados eram inferiores às da população geral. Concluíram ainda que os fatores de risco eram, na população infetada, os comuns à população geral: a idade e o IMC [402], e que a terapia não aparentava ser um fator de risco. Em 2007, Hansen *et al.*, num estudo que publicam dois anos mais tarde, chegam praticamente aos mesmos resultados, ou seja, uma prevalência entre infetados de 27%, sem que a terapia ou o tempo de duração da terapia se revelem factores de risco significativos para SM [401].

Alinhado com os anteriores está ainda o trabalho de Bajaj *et al.*, 2013, em que foi encontrada, na Índia, uma prevalência de SM que rondava os 20%. Também neste caso foi feita uma avaliação antes e depois de início da terapia HAART, e à semelhança do estudo de Hansen *et al.*, também não foram encontradas diferenças significativas nos fatores de risco para SM ditados pela terapia [407]. Um estudo realizado no Brasil em 2009 e publicado em 2013 encontrou uma prevalência de SM de 13% e 12% nos pacientes com e sem HAART, respetivamente [363].

Nos estudos realizados em doentes infetados pelo VIH, o risco cardiovascular e a prevalência de SM centram-se muito na dislipidemia, na insulinoresistência, na lipodistrofia, na terapia HAART e na inflamação derivada da infeção [364,365,404,408].

O nosso estudo está de acordo com o de Mondy *et al.* [402] quanto ao efeito da idade mas não na terapia, uma vez que na análise logística univariada para o risco de SM conforme o número de critérios (Tabela 31) a terapia revelou ser um factor significativo nesta amostra (onde também foi significativa a idade >50 anos), o que vai de encontro das conclusões de muitas publicações recentes nesta matéria [364,365,404,408].

Quanto aos fatores relacionados com a infeção, apenas os valores de CD4 parecem influenciar o desenvolvimento de SM, e os resultados são conflitantes. Enquanto há autores que não encontraram associação [409], outros indicam que valores elevados de CD4 se associam a taxas também mais elevadas de SM [402]. Em contraste, também há autores que concluíram serem os valores mais baixos (<100 células/mm<sup>3</sup>) os de maior risco de SM [410].

No nosso estudo, os doentes com SM e os doentes do que chamamos “grupo de risco” tinham valores mais elevados de CD4 (Figura 12), o que nos aproxima dos resultados de Mondy *et al.*, de 2007. Esta situação poderá ser explicada pelo aumento de CD4 (após supressão da CV), que permite ao hospedeiro uma resposta imunológica com processo inflamatório (aumento de citocinas e proteínas de fase aguda) abrindo assim o caminho para a insulinoresistência, e daí para o SM.

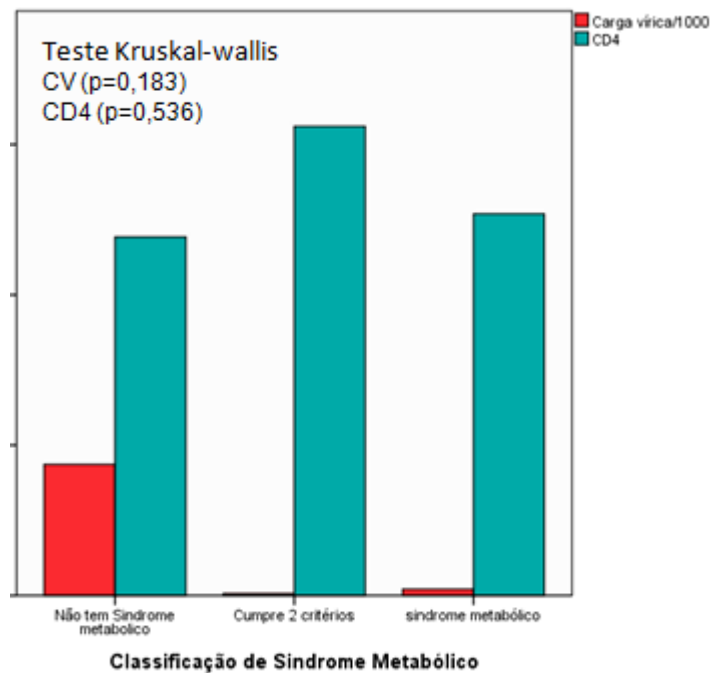


Figura 12. Diferença entre grupos de SM para CV e para contagem de linfócitos CD4+

Coincidentemente, essa reanimação imunológica é comprovada pelos valores médios mais elevados de PCRus nos doentes com SM e em risco de SM (Figura 12, Tabela 24).

No estudo de Lauda *et al.*, [395].tal como no nosso, foi avaliado o efeito do uso de antidiislipidemiantes, sendo os níveis de TG, nod dois casos, o fator que mais contribuiu para a definição de SM. Aqui alguns deles já tomavam fibratos e estatinas. No presente estudo foi encontrada uma prevalência de SM entre infetados de 22,9%, e uma percentagem de 31,0% de indivíduos em risco de SM, pois já cumpriam 2 critérios de definição.

Em relação aos fatores fisiopatológicos de base, os resultados fazem-nos crer que a inflamação, com a produção de IL-6 e depois de PCR por diferentes tecidos, criarão no grupo intermédio com 2 critérios de SM, as condições para o desenvolvimento do SM no infectado (Figura 16). Este processo será facilitado pelo estado geral do indivíduo, que, com possíveis efeitos sinérgicos das coinfeções, valores não protetores de HDL

À inflamação, este grupo associou valores não protetores de HDL e baixa capacidade antioxidante total (TAS) (Figuras 13, 14 e 15).

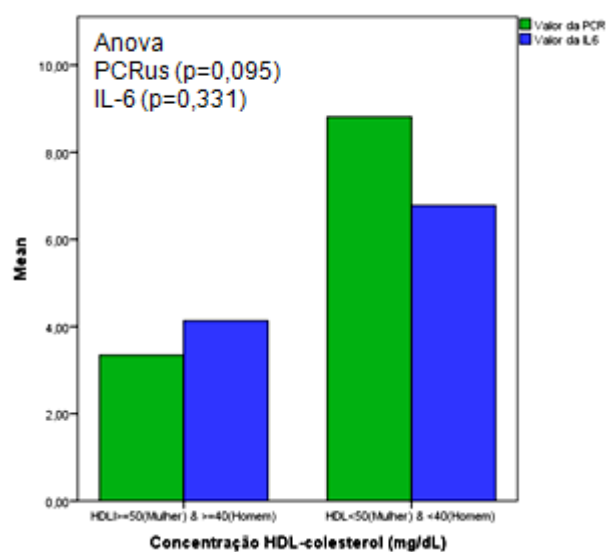


Figura 13. Diferenças no estado inflamatório (IL-6 e PCRus) em função dos níveis médios de HDL

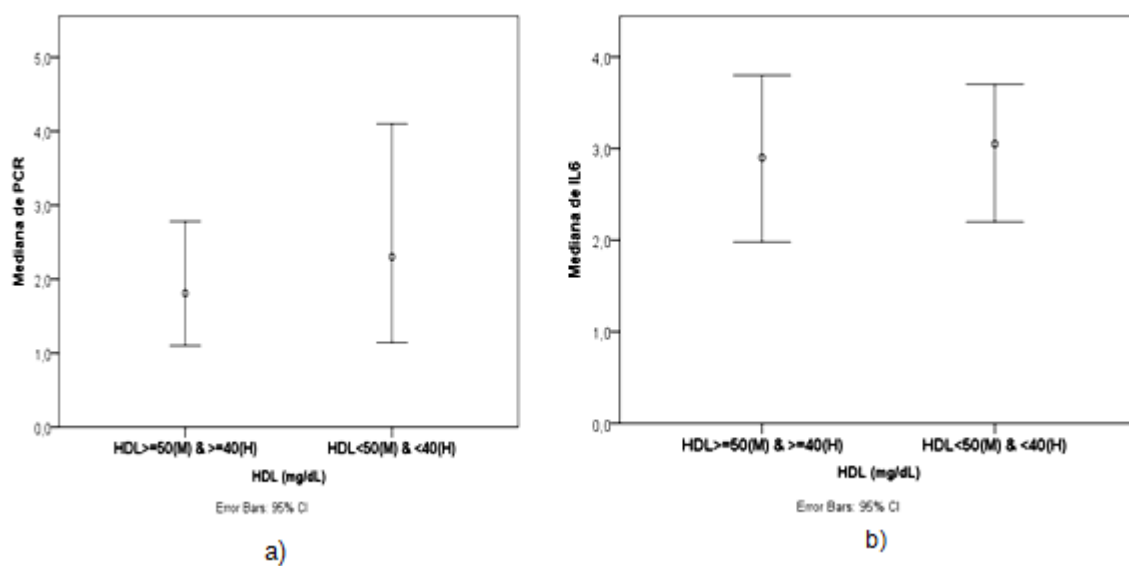


Figura 14. Relação entre os níveis medianos de a) HDL-colesterol e PCRus e b) HDL-colesterol e IL-6



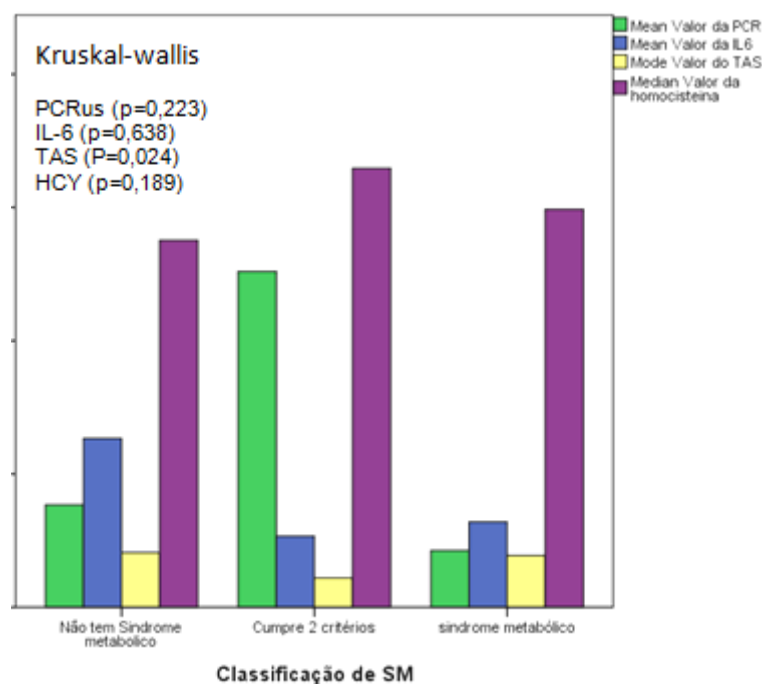


Figura 15. Diferença no estado inflamatório (IL-6 e PCRus) e TAS entre grupos de SM

## 8.5 Homocisteína

### 8.5.1 Resultados

De acordo com a revisão bibliográfica referida ao longo desta dissertação, a infecção por VIH resulta num maior risco de doença cardiovascular em relação à população geral. Para isso concorrem as alterações metabólicas, especialmente nos lípidos, com um particular aumento nos TG e LDL, e a terapia HAART, particularmente as combinações que envolvem IP. O grupo de estudo “*The Data Collection on Adverse Events of Anti-HIV Drugs*” (D:A:D) constatou, entre indivíduos infetados, mesmo após o ajuste para as alterações lipídicas, um aumento do número de casos de enfarte do miocárdio nos indivíduos tratados com inibidores de protease [196].

Para avaliarmos esse risco determinamos, para além da dislipidemia, da glicemia e do estado inflamatório, os níveis de homocisteína (HCY) num grupo de infetados e comparamos os resultados com os valores tidos como normais para a população saudável e entre os grupos segundo a classificação de SM (Tabela 32). Por último fez-se uma análise multivariada para determinar os fatores de risco para a possível alteração.

Por se relacionarem indiretamente com os níveis HCY, foram também determinados os níveis de ácido fólico. Os resultados embora não apresentados, foram todos considerados normais. A vitamina B12 não foi avaliada porque a amostra de plasma não pôde ser preservada nas condições exigidas pelo método.

Todos os doentes apresentaram valores de HCY que se podiam considerar elevados à luz dos valores de referência habitualmente aceites ( $< 14,0 \mu\text{mol/L}$ )<sup>2</sup>. Apesar de não haver uma diferença significativa, os doentes com SM apresentaram valores superiores aos dos que não tinham SM, mas os valores mais elevados foram observados no “grupo de risco de SM”, o grupo de indivíduos que cumpriam já 2 critérios de classificação.

Tabela 32. Níveis de homocisteína nos indivíduos infetados segundo a classificação de SM

	n	HCY Média ( $\mu\text{mol/L}$ )	IC95%		p*
<b>Com Síndrome Metabólico</b>	15	15,0	12,4	17,6	0,189
<b>Sem Síndrome Metabólico</b>	54	14,5	13,2	15,8	
<b>Cumpre 2 critérios</b>	11	17,4	14,0	20,8	

\*Teste t-Student

Através da análise univariada (Tabela 33), a coinfeção mostrou aumentar significativamente ( $p=0,018$ ) a probabilidade de existirem valores elevados de HCY na população infetada por VIH. Se coinfetado com vírus da hepatite B ou C há uma probabilidade cerca de 3,071 vezes superior à dos que não estão coinfetados.

A idade, a lipodistrofia, a terapia com IP e valores elevados de CD4, HOMA, IMC e PCRus associaram-se a uma probabilidade maior de desenvolver HCY  $>14 \mu\text{mol/L}$  nos indivíduos infetados. Por exemplo, valores de PCRus  $> 0,5 \text{ mg/dL}$  mostraram fazer aumentar 1,94 vezes a probabilidade dos doentes terem uma concentração de HCY  $> 14 \mu\text{mol/L}$ , relativamente aos que tinham PCRus  $<0,5 \text{ mg/dL}$ .

<sup>2</sup> Valores de referência adotados pela Clínica Mayo (EUA), que consideram normal para os adultos valores  $<14,0 \mu\text{mol/L}$

Tabela 33. Análise logística univariada de fatores associados a HCY >14 µmol/L para todos os doentes

		Homocisteína (µmol/L)		p	OR	IC95%
		≤14	>14			
<b>Sexo</b>	Feminino	8 (18,6%)	11 (29,7%)	0,244	1	0,19-1,53
	Masculino	35 (81,4%)	26 (70,3%)		0,540	
<b>Idade (anos)</b>	<39 anos	11 (26,8%)	8 (21,6%)	0,593	1	0,47-3,78
	≥39 anos	30 (73,2%)	29 (78,4%)		1,329	
<b>IMC (kg/mm<sup>2</sup>)</b>	Normal ou baixo (≤24,9)	23 (56,1%)	17 (50%)	0,598	1	0,51-3,18
	Elevado ou Obesidade (≥25,0)	18 (43,9%)	17 (50%)		1,278	
<b>Lipodistrofia</b>	Não	5 (71,4%)	3 (42,9%)	0,280	1	0,36-30,70
	Sim	2 (28,6%)	4 (57,1%)		3,333	
<b>Glicose (mg/dL)</b>	≤110	37 (86%)	31 (83,8%)	0,777	1	0,35-4,076
	>110	6 (14%)	6 (16,2%)		1,194	
<b>Colesterol total (mg/dL)</b>	<190	20 (46,5%)	20 (54,1%)	0,501	1	0,306-1,785
	≥190	23 (53,5%)	17 (45,9%)		0,739	
<b>Esquema HAART</b>	INRT+INNRT	23 (59%)	12 (37,5%)	0,072	1	0,918-6,25
	INRT+PI	16 (41%)	20 (62,5%)		2,396	
<b>Coinfeção HCV ou HBV</b>	Não	32 (74,4%)	18 (48,6%)	0,018	1	1,20-7,87
	Sim	11 (25,6%)	19 (51,4%)		3,071	
<b>CD4 (cel/mm<sup>3</sup>)</b>	<200	24 (92,3%)	14 (87,5%)	0,606	1	0,22-13,56
	≥200	2 (7,7%)	2 (12,5%)		1,714	
<b>HOMA</b>	≤3	32 (80%)	23 (67,6%)	0,225	1	0,67-5,50
	>3	8 (20%)	11 (32,4%)		1,913	
<b>PCRus (mg/dL)</b>	≤0,5	8 (19,5%)	4 (11,1%)	0,311	1	0,53-7,08
	>0,5	33 (80,5%)	32 (88,9%)		1,939	
<b>IL-6 (pg/mL)</b>	<7	35 (85,4%)	35 (97,2%)	0,071	1	0,02-1,46
	≥7	6 (14,6%)	1 (2,8%)		0,167	
<b>TAS (mmol/L)</b>	≥1,33	26 (100%)	28 (100%)	0,596	1	0,48-3,57
	<1,33	10 (24,4%)	11 (29,7%)		1,312	

INRT: Inibidores Nucleosídeos da Transcriptase Reversa; INNRT: Inibidores Não Nucleosídeos da Transcriptase Reversa; IP: Inibidores da protease; IL-6: interleucina 6; TAS: *status* antioxidante total; Mn: manganês; HCY: homocisteína; PCRus: proteína C reativa ultrasensível; HOMA: *Homeostatic Model Assessment*; CD4: linfócitos TCD4 positivo; CV: carga vírica; OR: Odds Ratio; IC95%: Intervalo de confiança; teste Qui-quadrado.

Tabela 34. Análise logística multivariada de fatores independentemente associados a HCY >14 µmol/L para todos os pacientes.

HCY >14 µmol/L	p	OR	IC95%
<b>Coinfeção HCV/HBV</b>	0,015	3,500	1,278-9,585
<b>Constante</b>	0,605	1,467	

\*Este modelo prevê 64,9% de resultados corretos.

Qualidade do modelo: -2 Log likelihood = 94,858; Cox & Snell R<sup>2</sup>=0,093; Nagelkerke R<sup>2</sup>=0,125; p (Hosmer and Lemeshow)=0,890; AUC (área sob a curva) = 0,650 (IC95%: 0,528-0,772)

Só a coinfeção com HCV ou HBV mostrou ser um fator de risco independente e significativo para HCY >14  $\mu\text{mol/L}$ . Nos indivíduos infectados com VIH com coinfeção HCV ou HBV a probabilidade de HCY >14  $\mu\text{mol/L}$  é 3,5 vezes superior à dos que não têm coinfeção [OR (IC95%): 3,50 (1,278-9,585),  $p=0,015$ ] (Tabela 34, Figura 15).

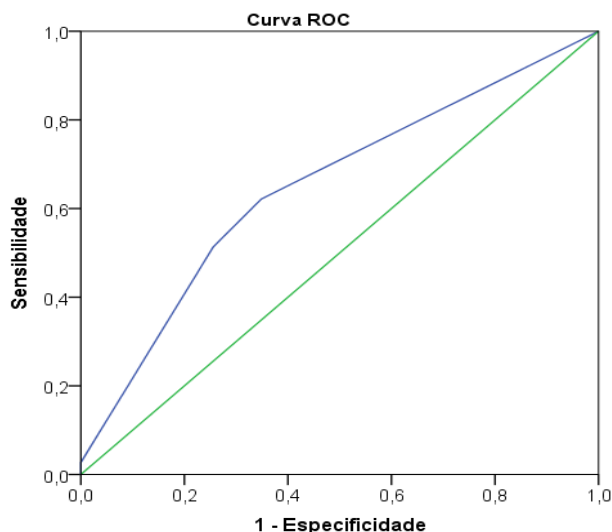


Figura 16. Curva ROC para análise logística multivariada de fatores independentemente associados a HCY >14  $\mu\text{mol/L}$  para todos os pacientes

O TAS foi excluído tanto da análise multivariada como univariada porque todos os doentes (independentemente de HCY superior ou inferior a 14  $\mu\text{mol/L}$ ) apresentavam valores superiores a 1,33 mmol/L. Contudo, por se suspeitar que o balanço entre inflamação e capacidade antioxidante condicionava também o ambiente para a hiperhomocisteinemia destes doentes, avaliou-se a diferença entre os valores de TAS nos grupos com valores de HCY inferiores e superiores a 14  $\mu\text{mol/L}$  (Tabela 35). Verificou-se que os doentes com valores de HCY superiores a 14 tinham níveis de TAS significativamente mais baixos que os doentes com HCY inferiores a 14  $\mu\text{mol/L}$  ( $p=0,017$ ) [Tabela 35].

Tabela 35. Relação dos valores de TAS com HCY  $\leq 14$  e  $>14$   $\mu\text{mol/L}$ 

	Homocisteína ( $\mu\text{mol/L}$ )	n	Média	Desvio padrão	p
<b>TAS (mmol/L)</b>	$\leq 14$	43	1,9719	0,15	0,017
	$>14$	37	1,8814	0,18	

Teste de Mann-Whitney

Tabela 36. Análise logística univariada de fatores associados a HCY  $>14$   $\mu\text{mol/L}$  para pacientes com SM

Variável	Categoria	Homocisteína ( $\mu\text{mol/L}$ )		p	OR	IC95%OR
		$\leq 14$	$>14$			
<b>Sexo</b>	Feminino	6 (23,1%)	10 (35,7%)	0,310	1	0,163-1,785
	Masculino	20 (76,9%)	18 (64,3%)		0,540	
<b>Idade (anos)</b>	$<39$ anos	8 (32%)	6 (21,4%)	0,384	1	0,503-5,923
	$\geq 39$ anos	17 (68%)	22 (78,6%)		1,725	
<b>Classificação IMC</b>	Normal (18,5-24,9)	20 (76,9%)	14 (51,9%)	0,028		
	Elevado (25,0-29,9)	6 (23,1%)	7 (25,9%)			
	Obesidade ( $\geq 30,0$ )	0 (0%)	6 (22,2%)			
<b>IMC2</b>	Normal/baixo ( $\leq 24,9$ )	20 (76,9%)	14 (51,9%)	0,057	1	0,947-10,115
	Elevado ou obesidade ( $\geq 25,0$ )	6 (23,1%)	13 (48,1%)		3,095	
<b>Lipodistrofia</b>	Não	4 (100%)	2 (40%)	0,167		
	Sim	0 (0%)	3 (60%)			
<b>CD4</b>	$<200$	17 (100%)	12 (85,7%)	0,196		
	$\geq 200$	0 (0%)	2 (14,3%)			
<b>Glicose (mg/dL)</b>	$\leq 110$	25 (96,2%)	25 (89,3%)	0,336	1	0,292-30,836
	$>110$	1 (3,8%)	3 (10,7%)		3,000	
	Total	26 (100%)	28 (100%)			
<b>Colesterol total (mg/dL)</b>	$<190$	12 (46,2%)	12 (42,9%)	0,808	1	0,39-3,347
	$\geq 190$	14 (53,8%)	16 (57,1%)		1,143	
<b>Esquema INRT+INNRT</b>	Sem terapêutica	2 (11,1%)	4 (26,7%)	0,249	1	0,053-2,215
	INRT+INNRT	16 (88,9%)	11 (73,3%)		0,344	
<b>Coinfeção com HCV</b>	Não	21 (80,8%)	15 (53,6%)	0,034	1	1,068-12,402
	Sim	5 (19,2%)	13 (46,4%)		3,640	
<b>HOMA</b>	$\leq 3$	21 (87,5%)	17 (68%)	0,102	1	0,755-14,369
	$>3$	3 (12,5%)	8 (32%)		3,294	
<b>PCRus (mg/dL)</b>	$\leq 0,5$	6 (24%)	3 (11,1%)	0,220	1	0,558-11,447
	$>0,5$	19 (76%)	24 (88,9%)		2,526	
<b>IL-6 (pg/mL)</b>	$<7$	18 (75%)	27 (96,4%)	0,040	1	0,012-1,002
	$\geq 7$	6 (25%)	1 (3,6%)		0,111	
<b>TAS (mmol/L)</b>	$\geq 1,33$	26 (100%)	28 (100%)			
	$<1,33$					
<b>Manganês (<math>\mu\text{g/L}</math>)</b>	$\geq 7$	17 (70,8%)	20 (71,4%)	0,962	1	0,292-3,235
	$<7$	7 (29,2%)	8 (28,6%)		0,971	

INRT: Inibidores Nucleosídeos da Transcriptase Reversa; INNRT: Inibidores Não Nucleosídeos da Transcriptase Reversa; IP: Inibidores da protease; IL-6: interleucina 6; TAS: *status* antioxidante total; Mn: manganês; HCY: homocisteína; PCRus: proteína C reativa ultrasensível; HOMA: *Homeostatic Model Assessment*; CD4: linfócitos TCD4; OR: *Odds Ratio*; IC 95%: Intervalo de confiança; teste Qui-quadrado

Na análise univariada para HCY >14 µmol/L em doentes com SM (Tabela 36), os fatores de risco mostraram-se sobreponíveis aos da totalidade da amostra estudada, mas além da coinfeção com HCV e/ou HBV, o IMC ( $p=0,028$ ) adquiriu um significado estatístico.

### 8.5.2 Discussão

A hiperhomocisteinemia é reconhecida como fator de risco independente para a doença isquémica do coração e AVC [348,353,411], tendo sido associada com a hipertensão e, em menor grau, com RI [412]. Apesar do mecanismo exato da associação entre HHCY e a doença cardiovascular ser ainda incerto [352,353], alguns estudos apontam um risco aproximadamente equivalente ao hábito tabágico e à hiperlipidemia [352].

Estudos realizados em diferentes patologias que não a infeção por VIH associam a HHCY à inflamação e ao risco de doença cardiovascular. Por exemplo, um estudo em diabéticos descreve valores significativamente mais elevados de PCR e IL-6 no grupo com DM, frente ao grupo controlo. Além disso, o índice HOMA e a HCY relacionaram-se diretamente com os marcadores inflamatórios [412].

A infeção pelo VIH pode também induzir fatores de risco não tradicionais ou emergentes para doença arterial coronária. Sejam os fatores inflamatórios, os fatores da coagulação [413,414], as apolipoproteínas, a Lp(a), o stresse oxidativo, os ácidos gordos não esterificados ou a própria HCY [355,358]. No que diz respeito à sua relação com a infeção por VIH, Coria-Ramirez e colaboradores, em 2012, publicaram um estudo sobre um grupo de infetados, onde avaliaram a evolução plasmática de HCY antes e 6 meses após início de terapia ARV. Observaram que os valores aumentaram sem que tivessem ocorrido alterações nutricionais nas vitaminas do grupo B e ácido fólico, assumindo alterações nas vias metabólicas da própria HCY provocadas pela HAART [358]. O facto deste estudo ter dado enfoque à terapia não permite, em nossa opinião, concluir sobre uma relação direta das duas, dado que os doentes têm a sua genética e a sua história de vida, e no decurso dos 6 meses muitos outros eventos relacionados ou não com a infeção e com a terapia podem ter concorrido para aumento observado.

Outro trabalho publicado sobre a HCY numa população de 249 mulheres infectadas pelo VIH frente a um controlo de 127 não infetadas observou uma HHCY (HCY >10 µmol/L) em 16,9% das infetadas *versus* 13,4% no grupo controlo. No grupo das infetadas verificaram uma associação significativa com a idade, a creatinina sérica e valores baixos

de CD4. Não encontraram associação com a CV e a terapia, mas com a vitamina B12 e de glóbulos rubros. Por este facto, este grupo, ao contrário do anterior, aponta as alterações nutricionais como a principal justificação [415].

Pelo contrário, outros estudos associam níveis elevados de HCY com a terapia. É o caso do *Swiss HIV Cohort Study* [416], em que a mais alta concentração de HCY foi observada nos homens infetados mas não nas mulheres, onde os valores encontrados não eram significativamente superiores aos dos controlos saudáveis (9,1 vs. 7,8  $\mu\text{mol/L}$ ). É admissível pensar que se a responsabilidade fosse da terapia não se verificaria esta diferença entre os sexos. Além disso, os indivíduos infetados eram, no conjunto, mais idosos que os controlos e a análise estatística não foi ajustada para a idade, facto que se tem mostrado um importante fator de confusão potencial [416]. Coloca-se a dúvida se a idade e o sexo masculino não seriam tanto ou mais importantes que a terapia. No nosso estudo, também se verificou a associação com a idade, mas, contrariamente, o facto de ser homem pareceu fazer diminuir a probabilidade de HHCY.

Bongiovanni *et al.* mediram os níveis de HCY em 3 grupos: 83 indivíduos naïve, 161 em terapia e 13 saudáveis. Embora encontrassem valores superiores no grupo em tratamento, só a idade e baixas concentrações de folato se associaram à HHCY [417].

Guaraldi *et al.* estudaram, num grupo de infetados estabilizados e em terapia, a prevalência de SM conjugando os fatores de risco tradicionais, a RI (através do índice HOMA) e a HCY plasmática. Concluíram que os níveis de HCY eram superiores nos indivíduos que tinham SM e lipodistrofia. Esses valores elevados encontraram-se também preferencialmente nos indivíduos que tinham hipertensão arterial, valores altos de índice HOMA e de TG, obesidade e grande perímetro abdominal, não encontrando uma associação direta com a terapia HAART [418].

Roca *et al.* [419] e Raiszdeh *et al.* [415] estudaram os efeitos da coinfeção com HCV nos níveis de HCY, que definiram altos para valores superiores a 10  $\mu\text{mol/L}$ , e encontraram uma relação positiva entre ambos, o que é concordante com os nossos resultados. Roca *et al.* encontraram, para além da coinfeção, uma relação significativa com a história familiar de doença cardiovascular e hipertensão arterial, o que sugere uma componente genética nas alterações do próprio metabolismo da HCY e no IMC elevado, para além da conhecida relação com os baixos valores de ácido fólico e vitamina B12.

Embora não apresentados, foram doseados os níveis de ácido fólico nestes doentes, que estavam de acordo com os valores de referência. As vitaminas do grupo B

não foram quantificadas uma vez que obrigavam a um tratamento imediato das amostras ou uma preservação especial, o que não se conseguiu garantir.

Na presente investigação não procurámos aceder a dados clínicos relativos a doença cardiovascular nos indivíduos estudados, mas os resultados permitem tirar as mesmas conclusões quanto a alguns fatores de risco de doença cardiovascular: inflamação, HHcy, IMC e coinfeção. A relação bidirecional, com mútua influência entre os marcadores de inflamação e os marcadores diretamente associados à patologia cardíaca permite-nos concluir que estes doentes, somando as particularidades e os sinergismos do fator infeção, coinfeção e terapia, terão um risco acrescido em relação aos não infetados.

Este estudo foi mais longe do que qualquer um dos referidos, ao avaliar a capacidade antioxidante (TAS e Mn). Os valores mais elevados de Hcy estavam associados aos níveis mais baixos de TAS e no grupo que cumpre 2 critérios de classificação de SM.



## Conclusões gerais

A intensa investigação que se realizou ao longo das últimas décadas sobre a infeção por VIH permitiu importantes avanços, que mudaram o seu prognóstico. De “uma morte anunciada” passou hoje para um perfil de doença crónica. A eficácia crescente da terapêutica antirretrovírica, com novos fármacos a explorarem outros pontos fulcrais do ciclo reprodutivo do vírus, a melhor tolerância e o desenvolvimento de coformulações [42], facilitaram a adesão, reduziram os efeitos metabólicos colaterais e permitem, atualmente, considerar o início do tratamento logo na fase aguda da infeção [172]. Este início mais precoce do tratamento visa impedir que o vírus se aloje em locais de difícil acesso ou entre numa forma de latência que, mesmo em situações de carga vírica (CV) suprimida, cause uma permanente inflamação.

Apesar dos dados contraditórios, há estudos que suportam a tese de que se pode atingir a normalização ou, no mínimo, uma aproximação aos valores normais de linfócitos CD4 (marcadores de recuperação do sistema imunitário do hospedeiro) quando a terapia se inicia com contagens de linfócitos superiores a 350 células/mm<sup>3</sup>. Dados do estudo EuroSIDA sugerem que um tratamento que mantenha uma CV suprimida (inferior a 50 cópias de ARN por mm<sup>3</sup> de sangue) de uma forma prolongada permite normalizar, em valores altos, o número de linfócitos T CD4.

Com a introdução da terapia de alta eficácia, este aumento e a sustentação dos valores de CD4 reduziu o risco de infeções oportunistas e, desse modo, também a morbilidade e a mortalidade da infeção. Por outro lado, uma CV indetetável diminui o risco de propagação da doença, por qualquer via, nomeadamente entre casais e por transmissão vertical [420]. Deste modo, os infetados recuperaram uma esperança e um estilo de vida perto da normalidade [42].

Nesta normalidade inclui-se o envelhecimento e um estilo de vida contemporâneo que os expõe a outras alterações metabólicas, típicas da idade, como a DM tipo 2, a dislipidemia e a doença cardiovascular. Além da idade, esta infeção e o seu tratamento não são inocentes, tendo a população infetada um envelhecimento fisiológico equivalente à população seronegativa com mais 10 anos de idade [196]. A equação de Framingham e as tabelas de scores usadas para prever o risco na população geral não foram ainda validadas para os infetados, e tudo indica que subestimem o risco efetivo desta população [356].

No presente, parece inegável que a infecção por VIH aumenta o stresse oxidativo no hospedeiro e é um fator de risco independente para doença cardiovascular. A terapêutica, apesar dos avanços alcançados, associa-se a algumas alterações metabólicas, como uma dislipidemia que resulta em lipoproteínas aterogénicas, que se depositam na parede dos vasos, processo também implicado na génese da DM tipo 2. Certo é que com a introdução da HAART reduziram-se nesta população as causas de morte relacionadas com a SIDA e com as doenças hepáticas, mas as relacionadas com a doença cardiovascular mantêm-se [196].

Uma das múltiplas estratégias víricas que lhe tem permitido vencer o Homem, com o seu conhecimento atual e seu bem orquestrado sistema imunitário, é o facto do vírus se alojar, após a infecção, não só em órgãos de difícil acesso, como o cérebro, mas também em grupos de células de vida prolongada, num estado latente e capaz de reiniciar novos ciclos de replicação após estímulos vários, como as coinfeções [153].

Hoje, a investigação mais acesa centra-se na compreensão dos ainda mal entendidos mecanismos de latência nos reservatórios víricos e dos padrões de resposta do sistema imunitário, no sentido de montar uma estratégia com vista à cura desta infecção. De acordo com os conhecimentos atuais, o combate efetivo da infecção por VIH deverá passar por uma associação de agentes antirretrovíricos com moléculas antilátência e tratamentos imunitários [421].

Os fármacos em investigação, que atingem as células com infecção latente, reduzindo ou anulando esse reservatório, poderão ser no futuro mais uma arma para conseguir a erradicação do vírus do hospedeiro [422]. Essa procura e essa esperança renasceram com o relato de casos de “cura”, como é o caso do “doente de Berlim” após o transplante de medula de um dador com mutação delta 32 CCR5, e de um recém-nascido que iniciou tratamento 31 horas após o nascimento [421].

As patologias cardiovasculares e o síndrome metabólico, aqui estudado, têm-se agravado não só na população comum, mas particularmente nos infetados por VIH, apesar da dislipidemia pela HAART estar grandemente reduzida com o recurso aos novos fármacos e com as novas directrizes para o tratamento dos doentes.

Nos motivos envelhecimento fisiológico precoce destes doentes, reconhece-se hoje a inflamação crónica resultante da reativação vírica nas células “reservatório” como causa de stresse oxidativo celular. Mesmo para uma carga vírica indetetável, o estudo SMART comprovou um aumento dos marcadores inflamatórios, das moléculas de adesão e dos marcadores de coagulação intravascular. Os valores de IL-6 e PCR encontrados

neste estudo foram, respetivamente, 60% e 38% mais elevados que na população de controlo, não infetada [423].

No trabalho por nós desenvolvido pretendeu-se analisar o síndrome metabólico no indivíduo infetado e a sua relação com os fatores próprios desta infeção

No total recolhemos amostras de sangue de 266 indivíduos infetados, dos quais estudamos o perfil lipídico, a glicose, a insulina e o TAS, alguns oligoelementos cofactores de enzimas antioxidantes como Se, Zn, Mn e Cu (que também são importantes no metabolismo dos lípidos e da glicose e na manutenção do sistema imunitário [259,261,289,317,322,326,327,384], a PCRus, a IL-6 e a homocisteína.

Numa primeira fase, num subgrupo de 175 indivíduos escolhidos entre os que faziam terapia há mais tempo e os que também estavam infetados há pelo menos 3 anos mas sem terapia (grupo naïve), conseguimos avaliar a dislipidemia e disglícemia causadas pela terapia, por comparação com as análises em arquivo destes doentes no início da infeção.

Em relação ao perfil lipídico, este piorou, após *follow-up* nos doentes sob terapia HAART quando comparado com o grupo que nunca experimentou terapia antirretrovírica. Apesar disso, os valores encontrados foram substancialmente mais baixos que os encontrados no nosso trabalho de 2007-2008 (artigo publicado fornecido em anexo). Neste aqui apresentado verificámos aumentos médio de 7,8% nos valores de CT, 11,0% nos de LDL; 18,2% nos de TG e 4,7% nos de HDL, sem diferenças significativas entre os grupos sob tratamento e o grupo naïve. Estes valores contrastam com os aumentos significativos em todos os parâmetros de perfil lipídico medidos no trabalho publicado (Anexo 2) 29% no CT ( $p < 0,001$ ), 9% no LDL ( $p = 0,012$ ), 17% nos TG ( $p = 0,002$ ) e 46% no HDL ( $p < 0,001$ ).

Os valores aqui hoje relatados estão em concordância com as publicações mais recentes, e esta melhoria deve-se, quanto a nós, sobretudo aos novos recursos terapêuticos e ao tratamento conjunto com antidislipidémiantes e antidiabéticos orais.

Quando estudamos os fatores de risco para TG em todos os doentes ( $n=266$ ), a análise univariada revelou que só o IMC e uma baixa capacidade antioxidante total, definida por um TAS inferior a 1,33 mmol/L) eram fatores de risco desta população ter TG  $>150$  mg/dL [OR (IC95%): 1,853 (0,992-3,462);  $p=0,052$ ], ao contrário de todas as variáveis estudadas, inclusivamente a HAART.

Na análise multivariada só o IMC mostrou ser fator de risco significativo e independente para TG  $>150$  mg/dL [OR (IC95%): 2,147 (1,093-5,344);  $p=0,029$ ], ou seja,

nesta amostra de indivíduos infetados ter excesso de peso ou ser obeso conferia uma probabilidade 2,1 vezes superior de se terem concentrações de TG superiores a 150 mg/dL relativamente aos indivíduos com peso normal ou com baixo IMC.

A importância de uma pressão oxidativa, revelada por um baixo TAS, como fator de risco para TG elevados exige um conhecimento mais profundo do mecanismo subjacente mas apoia a nossa tese de que o stresse celular constante e prolongado no tempo provocado pela permanência do vírus no hospedeiro será um denominador comum à resistência à insulina e à dislipidemia.

Quanto ao IMC, tal como na população geral, concorrem para o seu aumento a idade e o *modus vivendi* das sociedades atuais.

Em relação à disglícemia, verificou-se um aumento médio de 4,8% nos níveis de glicose ao fim dos cerca de 10 anos de terapia, por comparação com o grupo não tratado, o que está de acordo com relatado na maioria das publicações, que apontam valores entre os 2 e 5%.

Os resultados dos modelos estatísticos desse estudo revelam que a obesidade, a coinfeção com os vírus das hepatites B e C e a idade são os preditores com maior significado para o aumento de glicose nos sujeitos infetados pelo VIH. Os indivíduos obesos (IMC >30,0 kg/m<sup>2</sup>) terão um aumento de 13,8 mg/dL nos seus valores de glicose quando comparados com os que têm peso normal (p=0,018). Os coinfetados terão também valores mais elevados em 13,8 mg/dL (p=0,032) e, por cada ano de idade, prevê-se um aumento de 0,59 mg/dL nos valores de glicose (p=0,001) nesta população.

Quando estudámos todos os doentes (n=266) com mais informação reunida, a análise univariada revelou como fatores de maior probabilidade para glicose > 110 mg/dL, a idade (p=0,033), o tempo de infeção >10 anos (p=0,001), os CD4 >200 cel/mm<sup>3</sup> (p=0,006), a terapêutica HAART (p=0,006) e o índice HOMA >3 (p=0,000). Quase estatisticamente significativos foram o IMC elevado, a obesidade (p=0,070) e o Mn <7 µg/L (p=0,057).

Na análise multivariada, descontando todos os fatores, só a terapêutica HAART, o IMC elevado e o tempo de infeção é que se revelaram como fatores independentes de risco significativo para glicose > 110 mg/dL. Nesta população, os doentes tratados com INRT + INNRT apresentaram uma probabilidade cerca de 4 vezes superior em relação aos que tomavam INRT+IP [OR (IC95%): 4,036 (5,025-19,468)]; p=0,019). O IMC elevado ou indicativo de obesidade aumenta significativamente o risco de glicose elevada [OR (IC95%): 1,186 (1,016-1,383)]; p=0,036). Embora sem significado, o tempo de

infecção, também retido neste modelo, revelou que cada ano de infecção aumenta a probabilidade de ter glicose superior a 110 mg/dL [OR (IC95%): 5,050; p=0,107].

A ideia de que a HAART promove disglucemia não é consensual. Alguns autores relacionam não só a dislipidemia com a resistência à insulina e outras complicações metabólicas com a terapia HAART envolvendo o uso de inibidores da protease (IP) ou INNRT [196,219,231,362,424]. Outros autores defendem que nem o vírus nem a infecção pelo VIH aumentam o risco de diabetes [368,373], relacionando a incidência de hiperglicemia em pacientes com infecção por VIH somente com fatores de risco convencionais, como a idade e o IMC [368,373]. Aqui a terapia revelou ser um fator de risco fundamental, já não para a dislipidemia mas para a disglucemia, além de confirmar os fatores tradicionais (IMC e índice HOMA). Os INRT usados nesses doentes, já com longo curso, provocam toxicidade mitocondrial direta, com responsabilidade na insulinoresistência e lipodistrofia, e os INNRT também não foram ilibados desse efeito [207,425]. O longo tempo de infecção como fator de risco de glicose alta (> 110mg/dl) em todos os doentes revela que o vírus e as suas consequências no hospedeiro são fundamentais no desenvolvimento de insulinoresistência.

Como se referiu a propósito dos TG, o stresse celular constante e prolongado provocado pela permanência do vírus no hospedeiro são denominadores comuns à resistência à insulina e à dislipidemia.

Num subgrupo aleatório de 80 doentes estudamos também a inflamação (medindo a PCRus e a IL-6), e a HCY, além do TAS e alguns oligoelementos.

- Os valores de PCRus foram significativamente mais altos nos indivíduos infetados (p=0,000) quando comparados com os da amostra de controlo, e dentro dos infetados foram também mais altos no que chamamos “grupo de risco” (com 2 fatores de classificação de SM).
- Os valores de IL-6, quando comparados com os valores de referência, foram todos normais, mas os seus valores foram mais altos no grupo sem SM.
- Os valores médios de HCY em todos os indivíduos infetados foram claramente superiores (15,63 µmol/L) aos valores considerados normais para seronegativos (<14 µmol/L).
- Revelou-se fator de risco independente e significativo para valores de HCY > 14 µmol/L a coinfeção com HCV/HBV [OR (IC95%): 3,5 (1,28-9,59); p=0,015].

- O TAS, que alia a capacidade antioxidante total no indivíduo, foi significativamente mais baixo em todos os indivíduos infetados por comparação com o grupo de controlo, seronegativo ( $p=0,000$ ).

Na análise da população total para avaliar o síndrome metabólico verificou-se uma diferença significativa em relação ao sexo, com uma maior percentagem de homens ( $p=0,038$ ). Verificou-se também uma diferença significativa na idade, com mais idosos no grupo em tratamento. Em relação ao trabalho anterior houve um aumento de idosos em tratamento, explicado pelo aumento do tempo de vida em geral, pelo aparecimento de moléculas que prolongam a atividade sexual nos homens e torna os idosos cada vez mais vítimas desta infeção. O facto da relação heterossexual ter tomado a dianteira nas vias de infeção explica o recente aumento do número de mulheres infetadas, encontrado no grupo naive, infectado mais tarde. São também significativamente diferentes o IMC, com valores mais altos nos doentes sujeitos a terapia ( $p=0,015$ ), e a percentagem de doentes com lipodistrofia ( $p=0,000$ ), particularmente no grupo com IP. A lipodistrofia tem sido associada à HAART, mas como se sabe o vírus *per si* é capaz de provocar a apoptose celular, nomeadamente dos adipócitos. O facto dos indivíduos não tratados apresentarem uma carga vírica superior pode explicar este resultado. O fenómeno permanece ainda mal explicado, e dado que a amostra com estes dados era muito reduzida, ficará a suspeita e a necessidade de um estudo mais profundo para se tirarem conclusões mais consistentes.

Finalmente, para avaliar a prevalência do SM, usamos os critérios do ATP III. A falta de informação clínica, nomeadamente em relação aos dados antropométricos e a outras terapias que não a HAART (uso de anti-hipertensores, por exemplo) não permitiram classificar 65 elementos da amostra.

Nos 201 doentes de que se reuniram todos os dados necessários encontramos 22,9% ( $n=46$ ) com SM, os restantes 77,1% ( $n=155$ ) não tinham SM mas 31,0 % ( $n=48$ ) cumpriam já 2 critérios de classificação, pelo que os chamamos de “grupo de risco”.

O grupo com SM tinha relativamente mais homens (71,7%), mais casados (66,7%) e mais em uso de terapêutica com a associação INRT+IP (51,4%). Possuía também valores medianos de CT mais elevados [190 (160-234);  $p=0,204$ ]. Como seria de esperar, já que são critério para classificação, segundo as normas, também se encontraram, neste grupo com SM, valores de TG e glicose elevados e de HDL baixos ( $p < 0,001$ ).

Os fatores que mais contribuíram para classificar o SM foram os TG elevados, com uma média de 222,5 ( $\pm 106,1$ ) mg/dL, e o HDL baixo, 36,6 ( $\pm 9,2$ ) mg/dL, por se afastarem mais, em termos médios, da linha de corte dos critérios, e por último a glicose, com valores médios de 105,4 ( $\pm 28,2$ ) mg/dL. O perímetro abdominal não foi importante na classificação de SM porque, surpreendentemente, as diferenças não foram significativas ( $p=0,353$ ) entre os grupos com e sem SM.

Este dado sugere que as normas adotadas não estão adaptados à nossa população e, por isso, estes valores de prevalência devem estar subestimados. Novo estudo estatístico se impõe, usando os critérios ,mais recentes em que são sugeridos pontos de corte para obesidade e perímetro abdominal ajustados a distintos grupos étnicos [16,17].

A análise univariada de risco para SM revelou como fatores de probabilidade significativos a idade, quando superior a 50 anos (OR: 1,949;  $p=0,055$ ), e insulinoresistência (HOMA > 3) (OR: 2,937;  $p=0,006$ ).

O modelo de regressão logística multivariada para factores de risco independentes só reteve o HOMA como fator de risco significativo e independente [IC95% OR: 2,29-6,68;  $p=0,011$ ], ou seja, confirma a primeira suspeita de Reaven quando afirmou, em 1988, que a resistência à insulina seria o mecanismo fisiopatológico base ao síndrome metabólico, na altura apelidado de “Síndrome X”.

Comparando os dois grupos, observaram-se diferenças significativas no que respeita à idade, com mais idosos no grupo com SM [48 (41-57,5);  $p=0,037$ ], ao IMC, com mais excesso de peso e obesidade no grupo SM ( $p=0,000$ ), na insulina em jejum ( $p=0,002$ ) e no índice HOMA ( $p < 0,001$ ), também mais elevados no grupo com SM. Apesar dos oligoelementos medidos se apresentarem todos em valores normais na amostra total, a mediana dos valores de Cu foi mais baixa no grupo com SM ( $p=0,030$ ).

Dado que esta tese apoia a teoria que baseia o síndrome metabólico na inflamação subjacente e num maior stresse oxidativo nos doentes causado pelas comorbilidades (coinfeções), e acreditando que no “grupo de risco” estaria o “caldo de cultura” para desenvolvimento de SM, analisaram-se separadamente 3 grupos: sem SM (sem critérios ou com apenas 1 critério para classificação de SM); sem SM mas já com 2 critérios para SM (“grupo de risco”); e com SM (3 ou mais dos critérios, das normas da ATP III). Depois foi-se verificar como se relacionavam com os marcadores de inflamação (PCRus, IL-6), a homocisteína (HCY), o *status* antioxidante total (TAS) e os oligoelementos (Cu, Zn, Se e

Mn), cofatores das enzimas antioxidantes glutathiona peroxidase (GPx) e superóxido dismutase (SOD) (Tabela 23).

- Os valores médios de PCRus, que já eram significativamente mais altos nos infetados quando comparados com os da amostra de controlo, também eram mais altos (10,96 mg/dL) no grupo de risco (2 critérios de SM).
- Os valores médios de HCY, já claramente superiores (15,63  $\mu\text{mol/L}$ ) relativamente aos seronegativos (<14  $\mu\text{mol/L}$ ), foram maiores no “grupo de risco” (17,4  $\mu\text{mol/L}$ ) e no grupo com SM (15,0  $\mu\text{mol/L}$ ), quando comparados ao grupo com sem SM (14,5  $\mu\text{mol/L}$ ).
- O TAS, significativamente mais baixo em todos os indivíduos infetados ( $p=0,000$ ), era também significativamente mais baixo ( $p=0,024$ ) no grupo de risco [1,19 ( $\pm 0,87$ )], seguido do grupo com SM [1,41 ( $\pm 0,91$ )], quando comparadas com o grupo sem SM [1,51 ( $\pm 0,56$ ) mmol/L].
- Os valores de TAS eram também significativamente mais baixos nos doentes com valores de HCY superiores a 14  $\mu\text{mol/L}$  ( $P=0,017$ ).

Os baixos valores de TAS, como já se referiu, foram preditivos de risco significativo de valores de TG >150 mg/dL ( $p=0,052$ ).

Como o grupo de risco e o grupo com SM têm os valores mais baixos de HDL (por ser um critério de classificação) e, por se saber que esta lipoproteína tem na sua constituição proteínas com capacidade antioxidante, como a paroxonase, avaliou-se em que medida a PCRus, a IL-6 e o TAS se relacionavam com os níveis de HDL:

- Os valores mais altos de PCRus e de IL-6 encontravam-se nos indivíduos com valores de HDL mais baixos [<50 (M) & <40 (H) mg/dL], ou seja, uma baixa de HDL favorece a inflamação e o stresse oxidativo celular.

Por saber que a reanimação imunológica tem a ver com os níveis de CD4, avaliou-se como é que os níveis de CD4 se repartiam nos 3 grupos.

- Os valores mais elevados de CD4 estavam também no grupo de risco, seguido do classificado com SM.
- Valores mais elevados de CD4 também já tinham mostrado na análise de risco univariada serem preditivos de glicose > 110 mg/dL ( $p=0,006$ ).



Como conclusão final, pode afirmar-se que estes resultados vão de encontro aos objetivos e confirmam as suspeitas expressas neste estudo, bem como estão de acordo com a investigação mais recente realizada neste domínio. Pensamos ter dado resposta às questões que se colocaram e aos objetivos traçados.

Em resposta aos objetivos podemos afirmar que:

- O indivíduo infetado por VIH, em tratamento, tem mais dislipidemia, insulinoresistência e disglícemia que os indivíduos naïve, embora em comparação com uma investigação anterior os números tenham melhorado significativamente.
- Nos infetados há uma prevalência de SM avaliada em 22,9%, mas existe um subgrupo de alto risco que a curto prazo pode somar-se aqueles, pelo que podemos prever uma prevalência superior à da população geral. Consideramos ainda que estes valores podem estar subestimados devido às normas de classificação usadas.
- A HAART, apesar dos aumentos verificados nos lípidos, só se revelou fator de risco independente para a glicose alta.
- Os maiores valores de CD4, encontrados nos grupos de risco e com SM, foram também um fator de probabilidade significativa para glicose >110 mg/dL e para SM.
- Confirmou-se também o maior stresse oxidativo, demonstrado pelos baixos valores de TAS em todos os doentes com e sem SM. Além disso, os baixos valores de Mn (<7 µg/L) revelaram-se preditivos de SM (p=0,057).

Este estudo foi mais além na compreensão do intrincado processo que desencadeia o SM nos sujeitos infetados por VIH, reafirmou os clássicos fatores de risco (idade, IMC), mas introduziu conhecimento e aponta novos marcadores, para prever SM nestes doentes.

Os novos fármacos em investigação, antagonistas dos CCR5 mas que também agem nos CCR2, que se encontram em monócitos, nas células dendríticas e células T de memória, e que são recetores de quimiocinas associadas ao processo inflamatório, serão em nosso entender, no futuro próximo, drogas de primeira escolha para prevenção do SM no infectado com VIH.

Como lacunas deste estudo pode referir-se o facto de nem sempre se terem usado grupos de controlo saudáveis para comparação de alguns parâmetros (como no caso da

HCY e da IL-6) e de alguns não serem perfeitamente sobreponíveis à amostra de indivíduos infectados (como foi o caso dos oligoelementos).

A determinação da atividade da GPx e da SOD não foi realizada porque as técnicas disponíveis obrigavam a uma manipulação das amostras que colocava em grande risco toda a equipa de técnicos que apoiaram a investigação.

Além disso, nem todos os parâmetros foram avaliados na amostra total, o que reduziu o seu tamanho e fez perder alguma significância na análise estatística.

A classificação de SM deverá ser reavaliada segundo normas que adaptem o perímetro abdominal à nossa população.

Inevitavelmente a investigação é uma história que se vai contando e, tal como na História, vai-se reafirmando e negando, mas sempre acrescentando conhecimentos ao Conhecimento.

## Referências bibliográficasReferências Bibliográficas

- [1] G.M. Reaven. Why Syndrome X? From Harold Himsworth to the insulin resistance syndrome. *Cell Metab* 2005;1 (1): 9-14.
- [2] G.M. Reaven. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988;37 (12): 1595-607.
- [3] E. Fontas, F. van Leth, C.A. Sabin, N. Friis-Moller, M. Rickenbach, A. d'Arminio Monforte, et al. Lipid profiles in HIV-infected patients receiving combination antiretroviral therapy: are different antiretroviral drugs associated with different lipid profiles? *J Infect Dis* 2004;189 (6): 1856-74.
- [4] T. Demidova, A.S. Ametov, O.I. Titova. Current options of insulin resistance correction in patients with metabolic syndrome. *Ter Arkh* 2006;78 (10): 36-40.
- [5] I. Camps, J. Biarnes, J.M. Fernandez-Real, R. Insa, J. Soler, M. Fernandez Castaner. Insulin resistance and metabolic syndrome in first-degree relatives of patients with NIDDM. *Med Clin (Barc)* 1999;112 (8): 281-4.
- [6] A. Tiengo, S. Del Prato. Plurimetabolic syndrome: association of diabetes, dyslipidemia, and arterial hypertension. *Cardiologia* 1995;40 (12 Suppl 1): 237-43.
- [7] A. Psyrogianis, V. Kyriazopoulou, A. Symeonidis, M. Leotsinidis, A.G. Vagenakis. Relative iron "overload" in offspring of patients with type 2 diabetes mellitus: a new component in the conundrum of insulin resistance syndrome? *Hormones (Athens)* 2003;2 (3): 161-8.
- [8] I. Lemieux, B. Lamarche, C. Couillard, A. Pascot, B. Cantin, J. Bergeron, et al. Total cholesterol/HDL cholesterol ratio vs LDL cholesterol/HDL cholesterol ratio as indices of ischemic heart disease risk in men - The Quebec Cardiovascular Study. *Arch Intern Med* 2001;161 (22): 2685-92.
- [9] E. Diaz. Síndrome X o Síndrome Metabólico. 2005. Disponível em: [www.saludactual.cl/obesidad/sindromex.php](http://www.saludactual.cl/obesidad/sindromex.php). [acedido a 12 Dez 2010].
- [10] T. Joy, R.A. Hegele. Genetics of metabolic syndrome: is there a role for phenomics? *Curr Atheroscler Rep* 2008;10 (3): 201-8.
- [11] P. Poulsen, A. Vaag, K. Kyvik, H. Beck-Nielsen. Genetic versus environmental aetiology of the metabolic syndrome among male and female twins. *Diabetologia* 2001;44 (5): 537-43.
- [12] A.A. Alonso. Síndrome Metabólico. 2005. Disponível em: [www.fisterra.com/guias2/Smetabolico.asp](http://www.fisterra.com/guias2/Smetabolico.asp). [acedido a 3 de Dezembro de 2010].
- [13] K.G. Alberti, P.Z. Zimmet. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med* 1998;15 (7): 539-53.
- [14] National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation* 2002;106 (25): 3143-421.
- [15] International Diabetes Federation. The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome. 2005. Disponível em: [www.idf.org/webdata/docs/IDF\\_Metasyndrome\\_definition.pdf](http://www.idf.org/webdata/docs/IDF_Metasyndrome_definition.pdf). [acedido a 9 Janeiro 2014].
- [16] K.G. Alberti, R.H. Eckel, S.M. Grundy, P.Z. Zimmet, J.I. Cleeman, K.A. Donato, et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation* 2009;120 (16): 1640-5.

- [17] H. Schargrodsy, R. Hernandez-Hernandez, B.M. Champagne, H. Silva, R. Vinueza, L.C. Silva Aycaguer, et al. CARMELA: assessment of cardiovascular risk in seven Latin American cities. *Am J Med* 2008;121 (1): 58-65.
- [18] P. Dandona, A. Aljada, A. Chaudhuri, P. Mohanty, R. Garg. Metabolic syndrome: a comprehensive perspective based on interactions between obesity, diabetes, and inflammation. *Circulation* 2005;111 (11): 1448-54.
- [19] P. Dandona, A. Chaudhuri, H. Ghanim, P. Mohanty. Proinflammatory effects of glucose and anti-inflammatory effect of insulin: relevance to cardiovascular disease. *Am J Cardiol* 2007;99 (4A): 15B-26B.
- [20] R. Garg, D. Tripathy, P. Dandona. Insulin resistance as a proinflammatory state: mechanisms, mediators, and therapeutic interventions. *Curr Drug Targets* 2003;4 (6): 487-92.
- [21] P. Dandona, A. Chaudhuri, H. Ghanim, P. Mohanty. Insulin as an anti-inflammatory and antiatherogenic modulator. *J Am Coll Cardiol* 2009;53 (5 Suppl): S14-20.
- [22] C. Stevens, G. Walz, C. Singaram, M.L. Lipman, B. Zanker, A. Muggia, et al. Tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1 beta, and interleukin-6 expression in inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci* 1992;37 (6): 818-26.
- [23] S.C. Grinspoon, A. Cardiovascular risk and body-fat abnormalities in HIV-infected adults. *N Engl J Med* 2005;352 (1): 48-62.
- [24] A. Xu, S. Yin, L. Wong, K.W. Chan, K.S. Lam. Adiponectin ameliorates dyslipidemia induced by the human immunodeficiency virus protease inhibitor ritonavir in mice. *Endocrinology* 2004;145 (2): 487-94.
- [25] P.E. Tarr, P. Taffe, G. Bleiber, H. Furrer, M. Rotger, R. Martinez, et al. Modeling the influence of APOC3, APOE, and TNF polymorphisms on the risk of antiretroviral therapy-associated lipid disorders. *J Infect Dis* 2005;191 (9): 1419-26.
- [26] J.S. Yudkin, I. Juhan-Vague, E. Hawe, S.E. Humphries, G. di Minno, M. Margaglione, et al. Low-grade inflammation may play a role in the etiology of the metabolic syndrome in patients with coronary heart disease: the HIFMECH study. *Metabolism* 2004;53 (7): 852-7.
- [27] K.M. Rexrode, A. Pradhan, J.E. Manson, J.E. Buring, P.M. Ridker. Relationship of total and abdominal adiposity with CRP and IL-6 in women. *Ann Epidemiol* 2003;13 (10): 674-82.
- [28] A. Hoffmeister, D. Rothenbacher, G. Bode, K. Persson, W. März, M.A. Nauck, et al. Current infection with helicobacter pylori, but not seropositivity to chlamydia pneumoniae or cytomegalovirus, is associated with an atherogenic, modified lipid profile. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21 (3): 427-32.
- [29] C. Grunfeld, M. Pang, W. Doerrler, J.K. Shigenaga, P. Jensen, K.R. Feingold. Lipids, lipoproteins, triglyceride clearance, and cytokines in human immunodeficiency virus infection and the acquired immunodeficiency syndrome. *J Clin Endocr Metab* 1992;74 (5): 1045-52.
- [30] M. Tungsiripat, J.A. Aberg. Dyslipidemia in HIV patients. *Cleve Clin J Med* 2005;72 (12): 1113-20.
- [31] M.K. Hellerstein, C. Grunfeld, K. Wu, M. Christiansen, S. Kaempfer, C. Kletke, et al. Increased de novo hepatic lipogenesis in human immunodeficiency virus infection. *J Clin Endocr Metab* 1993;76 (3): 559-65.
- [32] M. Shahmanesh, S. Das, M. Stolinski, F. Shojaee-Moradie, N.C. Jackson, W. Jefferson, et al. Antiretroviral treatment reduces very-low-density lipoprotein and intermediate-density lipoprotein apolipoprotein B fractional catabolic rate in human immunodeficiency virus-infected patients with mild dyslipidemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90 (2): 755-60.
- [33] M.A. den Boer, J.F. Berbee, P. Reiss, M. van der Valk, P.J. Voshol, F. Kuipers, et al. Ritonavir impairs lipoprotein lipase-mediated lipolysis and decreases uptake of fatty acids in adipose tissue. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;26 (1): 124-9.

- [34] L. Baril, I. Beucier, M.A. Valantin, E. Bruckert, D. Bonnefont-Rousselot, A. Coutellier, et al. Low lipolytic enzyme activity in patients with severe hypertriglyceridemia on highly active antiretroviral therapy. *AIDS* 2001;15 (3): 415-7.
- [35] M. Masia-Canuto, E. Bernal-Morell, F. Gutierrez-Rodero. Lipid alterations and cardiovascular risk associated with antiretroviral therapy. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2006;24 (10): 637-48.
- [36] C.M. Thomas, E.J. Smart. How HIV protease inhibitors promote atherosclerotic lesion formation. *Curr Opin Lipidol* 2007;18 (5): 561-5.
- [37] D. Chen, A. Misra, A. Garg. Clinical review 153: Lipodystrophy in human immunodeficiency virus-infected patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87 (11): 4845-56.
- [38] S. Mauss, J. Stechel, R. Willers, G. Schmutz, F. Berger, W.O. Richter. Differentiating hyperlipidaemia associated with antiretroviral therapy. *AIDS* 2003;17 (2): 189-94.
- [39] V. Montessori, N. Press, M. Harris, L. Akagi, J.S. Montaner. Adverse effects of antiretroviral therapy for HIV infection. *Can Med Assoc J* 2004;170 (2): 229-38.
- [40] D. Periard, A. Telenti, P. Sudre, J.J. Cheseaux, P. Halfon, M.J. Reymond, et al. Atherogenic dyslipidemia in HIV-infected individuals treated with protease inhibitors. The Swiss HIV Cohort Study. *Circulation* 1999;100 (7): 700-5.
- [41] B. Clotet, E. Negredo. HIV protease inhibitors and dyslipidemia. *AIDS Rev* 2003;5 (1): 19-24.
- [42] M. Airoldi, M. Zaccarelli, I. Bisi, T. Bini, A. Antinori, C. Mussini, et al. One-pill once-a-day HAART: a simplification strategy that improves adherence and quality of life of HIV-infected subjects. *Patient Prefer Adherence* 2010;4: 1125-125.
- [43] B. Rakotoambinina, J. Medioni, C. Rabian, V. Jubault, J.P. Jais, J.P. Viard. Lipodystrophic syndromes and hyperlipidemia in a cohort of HIV-1-infected patients receiving triple combination antiretroviral therapy with a protease inhibitor. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2001;27 (5): 443-9.
- [44] A. Carr, K. Samaras, D.J. Chisholm, D.A. Cooper. Pathogenesis of HIV-1-protease inhibitor-associated peripheral lipodystrophy, hyperlipidaemia, and insulin resistance. *Lancet* 1998;351 (9119): 1881-3.
- [45] L. Calza, R. Manfredi, F. Chiodo. Dyslipidaemia associated with antiretroviral therapy in HIV-infected patients. *J Antimicrob Chemoth* 2004;53 (1): 10-4.
- [46] R. Gross, S.L. Bellamy, J. Chapman, X. Han, J. O'Duor, S.C. Palmer, et al. Managed problem solving for antiretroviral therapy adherence: A randomized trial. *JAMA Intern Med* 2013;173 (4): 300-6.
- [47] S. Badiou, C. Merle De Boever, A.M. Dupuy, V. Baillat, J.P. Cristol, J. Reynes. Decrease in LDL size in HIV-positive adults before and after lopinavir/ritonavir-containing regimen: an index of atherogenicity? *Atherosclerosis* 2003;168 (1): 107-13.
- [48] B. Zhang, K. MacNaul, D. Szalkowski, Z. Li, J. Berger, D.E. Moller. Inhibition of adipocyte differentiation by HIV protease inhibitors. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84 (11): 4274-7.
- [49] Centers for Disease Control and Prevention. Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS) in prison inmates--New York, New Jersey. *MMWR* 1983;31 (52): 700-1.
- [50] H.H. Schmidt, G. Behrens, J. Genschel, M. Stoll, A. Dejam, R. Haas, et al. Lipid evaluation in HIV-1-positive patients treated with protease inhibitors. *Antivir Ther* 1999;4 (3): 163-70.
- [51] J. Idiculla, G.D. Ravindra'n, J. D'Souza, G. Singh, S. Furrugh. Diabetes mellitus, insulin resistance, and metabolic syndrome in HIV-positive patients in South India. *Int J Gen Med* 2011;4: 73-8.
- [52] A. Gutierrez, A. Balasubramanyam. Dysregulation of glucose metabolism in HIV patients: epidemiology, mechanisms and management. *Endocrine* 2012;41 (1): 1-10.
- [53] M. Mandina Ndonga, B. Longo-Mbenza, R. Wumba, B. Tandu Umba, B. Buassa-bu-Tsumbu, M. Mambimbi, et al. Nadir CD4+, religion, antiretroviral therapy, incidence of type 2 diabetes mellitus, and increasing rates of obesity among black Africans with HIV disease. *Int J Gen Med* 2012;5: 983-90.

- [54] D.P. Kotler, J. Wang, R.N. Pierson. Body composition studies in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *Am J Clin Nutr* 1985;42 (6): 1255-65.
- [55] H. Choe, M. Farzan, Y. Sun, N. Sullivan, B. Rollins, P.D. Ponath, et al. The  $\beta$ -chemokine receptors CCR3 and CCR5 facilitate infection by primary HIV-1 isolates. *Cell* 1996;85 (7): 1135-48.
- [56] M.S. Hickey, K.E. Weaver. Nutritional management of patients with ARC or AIDS. *Gastroenterol Clin North Am* 1988;17 (3): 545-61.
- [57] C. Grunfeld, M. Pang, L. Shimizu, J.K. Shigenaga, P. Jensen, K.R. Feingold. Resting energy expenditure, caloric intake, and short-term weight change in human immunodeficiency virus infection and the acquired immunodeficiency syndrome. *Am J Clin Nutr* 1992;55 (2): 455-60.
- [58] D.P. Kotler, A.R. Tierney, J. Wang, R.N. Pierson, Jr. Magnitude of body-cell-mass depletion and the timing of death from wasting in AIDS. *Am J Clin Nutr* 1989;50 (3): 444-7.
- [59] C.Y. de Burbure, J.F. Heilier, J. Neve, A. Becker, C. Albrecht, P.J. Borm, et al. Lung permeability, antioxidant status, and NO<sub>2</sub> inhalation: a selenium supplementation study in rats. *J Toxicol Environ Health A* 2007;70 (3-4): 284-94.
- [60] C. Glumer, B. Carstensen, A. Sandbaek, T. Lauritzen, T. Jorgensen, K. Borch-Johnsen, et al. A Danish diabetes risk score for targeted screening: the Inter99 study. *Diabetes Care* 2004;27 (3): 727-33.
- [61] A.A. Butt, K. McGinnis, M.C. Rodriguez-Barradas, S. Crystal, M. Simberkoff, M.B. Goetz, et al. HIV infection and the risk of diabetes mellitus. *AIDS* 2009;23 (10): 1227-34.
- [62] B. Ledergerber, H. Furrer, M. Rickenbach, R. Lehmann, L. Elzi, B. Hirschel, et al. Factors associated with the incidence of type 2 diabetes mellitus in HIV-infected participants in the Swiss HIV Cohort Study. *Clin Infect Dis* 2007;45 (1): 111-9.
- [63] K. Mohammadi, R. Roussel, O. El Dbouni, L. Potier, C. Abi Khalil, E. Capel, et al. Type B insulin resistance syndrome associated with an immune reconstitution inflammatory syndrome in an HIV-infected woman. *J Clin Endocr Metab* 2011;96 (4): E653-7.
- [64] J. Palios, N. Kadoglou, S. Lampropoulos. The pathophysiology of HIV-/HAART-related metabolic syndrome leading to cardiovascular disorders: the emerging role of adipokines. *Exp Diabetes Res* 2012;2012 (Article ID 103063).
- [65] Y. Zhang, M. Wang, H. Li, H. Zhang, Y. Shi, F. Wei, et al. Accumulation of nuclear and mitochondrial DNA damage in the frontal cortex cells of patients with HIV-associated neurocognitive disorders. *Brain Res* 2012;1458 (0): 1-11.
- [66] Centers for Disease Control and Prevention. Pneumocystis Pneumonia --- Los Angeles MMWR 1981;30 (21): 1-3.
- [67] M.S. Gottlieb, R. Schroff, H.M. Schanker, J.D. Weisman, P.T. Fan, R.A. Wolf, et al. Pneumocystis carinii pneumonia and mucosal candidiasis in previously healthy homosexual men: evidence of a new acquired cellular immunodeficiency. *N Engl J Med* 1981;305 (24): 1425-31.
- [68] Centers for Disease Control and Prevention. Epidemiologic Notes and Reports Persistent, Generalized Lymphadenopathy among Homosexual Males. MMWR 1982;31 (19): 249-51.
- [69] K.B. Hymes, T. Cheung, J.B. Greene, N.S. Prose, A. Marcus, H. Ballard, et al. Kaposi's sarcoma in homosexual men-a report of eight cases. *Lancet* 1981;2 (8247): 598-600.
- [70] Centers for disease Control and Prevention. Difuse, undifferentiated non-Hodgkins lynfoma among homosexual males--United States. MMWR 1982;31 (21): 277-9.
- [71] B. Rubial-Ares, L. Belmonte, P. Baré, C. Bayo-Hanza, M. Bracco. Interacciones del virus de la inmunodeficiencia humana con células del sistema inmune. Inmunopatogenia y transtornos de la regulación imune. In: Rabinovich G, Alvelar M, editors. Inmunopatología molecular: nuevas fronteras de la medicina: un nexo entre la investigación biomédica y la práctica clínica. Argentina: Panamericana; 2004. p. 323-9.
- [72] R. Selik, S. Chu, J. Ward. Trends in infectious diseases and cancers among persons dying of HIV infection in the United States from 1987 to 1992. *Ann Intern Med* 1995;123 (12): 933-6.
- [73] R.O. Brennan, D.T. Durack. Gay compromise syndrome. *Lancet* 1981;2 (8259): 1338-9.

- [74] Centers for Disease Control and Prevention. Opportunistic infections and Kaposi's sarcoma among haitians in the United States. MMWR 1982;31 (26): 353-4, 60-61.
- [75] Centers for Disease Control and Prevention. Update on Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS) among patients with hemophilia A. MMWR 1982;31 (48): 644-6,52.
- [76] Centers for Disease Control and Prevention. Epidemiologic notes and reports possible transfusion-associated Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS) -- California. MMWR 1982;31 (48): 652-4.
- [77] A.C. Collier, R.W. Coombs, M.A. Fischl, P.R. Skolnik, D. Northfelt, P. Boutin, et al. Combination therapy with zidovudine and didanosine compared with zidovudine alone in HIV-1 infection. Ann Intern Med 1993;119 (8): 786-93.
- [78] Centers for Disease Control and Prevention. Epidemiologic notes and reports immunodeficiency among female sexual partners of males with Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS)--New York. MMWR 1983;31 (52): 697-8.
- [79] U. Kher. A name for the plague. Time Magazine. 2003. Disponible em: <http://www.time.com/time/80days/820727.html>. [accedido a 01-10-2010].
- [80] D.L. Paterson, S. Swindells, J. Mohr, M. Brester, E.N. Vergis, C. Squier, et al. Adherence to protease inhibitor therapy and outcomes in patients with HIV infection. Ann Intern Med 2000;133 (1): 21-30.
- [81] W. Dowdle. The epidemiology of AIDS. Public Health Rep 1983;98 (4): 308-12.
- [82] Public Health Laboratory Service Communicable Disease Surveillance Centre. Surveillance of the acquired syndrome immune deficiency syndrome in the United Kingdom, January 1982-July 1983. Br Med J (Clin Res Ed) 1983;287: 407-8.
- [83] Centers for Disease Control and Prevention. Unexplained immunodeficiency and opportunistic infections in infants -- New York, New Jersey, California. MMWR 1982;31 (49): 665-6.
- [84] Centers for Disease Control and Prevention. International notes update: acquired immunodeficiency syndrome--Europe. MMWR 1985;34 (2): 21-2,8-31.
- [85] K. Sepkowitz. AIDS -The first 20 Years. N Engl J Med 2001;344: 1764-72.
- [86] A. Burten. Enfuvirtide approved for defusing HIV Lancet Infect Dis [Online] 2003;3 (5): 260.
- [87] F. Barré-Sinoussi, J.C. Chermann, F. Rey, M.T. Nugeyre, S. Chamaret, J. Gruest, et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). Science 1983;220 (4599): 868-71.
- [88] R. Gallo, S. Salahuddin, M. Popovic, G. Shearer, M. Kaplan, B. Haynes, et al. Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and at risk for AIDS. Science 1984;224 (4648): 500-3.
- [89] A.P. Waterson. Acquired immune deficiency syndrome. Br Med J (Clin Res Ed) 1983;286 (6367): 743-6.
- [90] R. Pear. Aids Blood Test To Be Available In 2 To 6 Weeks. New York Times. 1985. Disponible em: <http://www.query.nytimes.com/gst/fullpage.htm>. [accedido a 01-10-2010].
- [91] A. Mindel, M. Tenant-Flowers. ABC of AIDS: Natural history and management of early HIV infection. BMJ 2001;322 (7297): 1290-3.
- [92] J.M. Peña, J.J. Vazquez. Nueva definición, nueva clasificación. ¿Soluciones o más problemas? Med Clin (Barc) 1992;99 (19): 735-7.
- [93] G. Pantaleo, C. Graziosi, L. Butini, P. Pizzo, S. Schnittman, D. Kotler, et al. Lymphoid organs function as major reservoirs for human immunodeficiency virus. Proc Natl Acad Sci USA 1991;88 (21): 9838-42.
- [94] D. Finzi, M. Hermankova, T. Pierson, L.M. Carruth, C. Buck, R.E. Chaisson, et al. Identification of a reservoir for HIV-1 in patients on highly active antiretroviral therapy. Science 1997;278 (5341): 1295-300.

- [95] M. Hirsch, B. Conway, R. D'Aquila, V. Johnson, F. Brun-Vézinet, B. Clotet, et al. Antiretroviral drug resistance testing in adults with HIV infection. Implications for clinical management. *J Am Med Assoc* 1998;279 (24): 1984-91.
- [96] K. Überla, C. Staahl-Hennig, D. Boottiger, K. Mätz-Rensing, F. Kaup, J. Li, et al. Animal model for the therapy of acquired immunodeficiency syndrome with reverse transcriptase inhibitors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92 (18): 8210-4.
- [97] E. Kodish, J. Lantos, M. Siegler. Ethical considerations in randomized controlled clinical trials. *Cancer* 1989;65 (S1): 2400-4.
- [98] E. Freed, M. Martin. HIVs and their replication. In: DM Knipe PH, DE Griffin, RA Lamb, B Roizman, MA Martin, SE Straus, editor. *Fields Virology*. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001. p. 1971-2041.
- [99] P. Murray, K. Rosental, M. Pfaller. Retroviruses. In: P.R. Murray KSR, M.A. Pfaller, editor. *Medical Microbiology*. USA: Elsevier Mosby; 2005. p. 657-73.
- [100] R.C. Gallo, S.Z. Salahuddin, M. Popovic, G. Shearer, M. Kaplan, B. Haynes, et al. Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and at risk for AIDS. *Science* 1984;224 (4648): 500-3.
- [101] Sharp PM, Bailes E, Chaudhuri RR, et al. . The originis of acquired immune deficiency syndrome viruses: where and when? *Philos T Roy Soc B* 2001;356 (1410): 867-76.
- [102] B. Hahn, G. Shaw, K. De Cock, P. Sharp. AIDS as a zoonosis: scientific and public health implications. *Science* 2000;287 (5453): 607-14.
- [103] M.L. Kalish, K.E. Robbins, D. Pieniazek, A. Schaefer, N. Nzilambi, T.C. Quinn, et al. Recombinant viruses and early global HIV-1 epidemic. *Emerg Infect Dis* 2004;10 (7): 1227-33.
- [104] D. Paraskevis, P. Lemey, M. Salemi, M. Suchard, Y. Van De Peer, A. Vandamme. Analysis of the evolutionary relationships of HIV-1 and SIVcpz sequences using bayesian inference: implications for the origin of HIV-1. *Mol Biol Evol* 2003;20 (12): 1986-96.
- [105] P. Gomes, A. Abecasis, M. Almeida, R. Camacho, K. Mansinho. Transmission of HIV-2. *Lancet Infect Dis* 2003;3 (11): 683-4.
- [106] Disponível em: <http://www.answers.com/topic/hiv-siv-phylogenetic-tree-png>. [acedido a 01-10-2010].
- [107] Streicher H.Z., Reitz M.S.JR., G. R.C. Human Immunodeficiency Viruses. In: Mandell DaBGLM, J.E. Bennett, R. Dolin, editor. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. USA: Churchill Livinstone; 2000. p. 1874-85.
- [108] E. Freed. HIV-1 replication. *Somat Cell Mol Genet* 2001;26 (1-6): 13-33.
- [109] Clavel F, Hance AJ. Medical progress HIV drug resistance. *N Engl J Med* 2004;350: 1023-35.
- [110] Z. Matsuda, J. Hellinger, M. Essex. Human immunodeficiency virus and other retroviruses. In: Gorbach S, Bartlett J, Blacklow N, editors. *Infectious Disesases United States of America*: W.B. Saunders Company; 1998. p. 2200-15.
- [111] E. Young. The role of the FDA in the effort against AIDS. *Public Health Rep* 1988;103 (3): 242-5.
- [112] H.K. Lysterly, T.J. Matthews, A.J. Langlois, D.P. Bolognesi, K.J. Weinhold. Human T-cell lymphotropic virus IIIB glycoprotein (gp120) bound to CD4 determinants on normal lymphocytes and expressed by infected cells serves as target for immune attack. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987;84 (13): 4601-5.
- [113] G. Simmons, D. Wilkinson, J.D. Reeves, M.T. Dittmar, S. Beddows, J. Weber, et al. Primary, syncytium-inducing human immunodeficiency virus type 1 isolates are dual-tropic and most can use either Lestr or CCR5 as coreceptors for virus entry. *J Virol* 1996;70 (12): 8355-60.
- [114] P. Gupta, R. Balachandran, M. Ho, E. Enrico, C. Rinaldo. Cell-to-cell transmission of human immunodeficiency virus type 1 in the presence of azidothymidine and neutralizing antibody. *J Virol* 1989;63 (5): 2361-5.



- [115] M.P. Dube, J.H. Stein, J.A. Aberg, C.J. Fichtenbaum, J.G. Gerber, K.T. Tashima, et al. Guidelines for the evaluation and management of dyslipidemia in human immunodeficiency virus (HIV)-infected adults receiving antiretroviral therapy: recommendations of the HIV Medical Association of the Infectious Disease Society of America and the Adult AIDS Clinical Trials Group. *Clin Infect Dis* 2003;37 (5): 613–27.
- [116] E.M.-G. Gonzalez-Reimers, M. C.Aleman-Valls, M. R.de la Vega-Prieto, M. J.Galindo-Martin, L.Abreu-Gonzalez, P.Santolaria-Fernandez, F. Relative and combined effects of chronic alcohol consumption and HCV infection on serum zinc, copper, and selenium. *Biol Trace Elem Res* 2009.
- [117] M.E. Castaño, S. Urcuqui. Proteínas celulares cómplices de las proteínas regulatorias y accesorias del VIH-1. *Colomb Med* 2004;35 (2): 112-20.
- [118] S. Hammer, K. Squires, M. Hughes, J. Grimes, L. Demeter, J. Currier, et al. A controlled trial of two nucleoside analogues plus indinavir in persons with human immunodeficiency virus infection and CD4 cell count of 200 per cubic millimeter or less. *N Engl J Med* 1997;337 (11): 725-33.
- [119] Emerman M., M. M.H. HIV-1 regulatory/accessory genes: keys to unraveling viral and host cell biology. *Science* 1998;280: 1880-4.
- [120] K. Muthumani, D.S. Hwang, A.Y. Choo, S. Mayilvahanan, N.S. Dayes, K.P. Thieu, et al. HIV-1 Vpr inhibits the maturation and activation of macrophages and dendritic cells in vitro. *Int Immunol* 2005; 17 (2): 103–16.
- [121] M.H. Malim. Natural resistance to HIV infection: The Vif-APOBEC interaction. *C R Biol* 2006;329 (11): 871-5.
- [122] K. Sakai, J. Dimas, M.J. Lenardo. The Vif and Vpr accessory proteins independently cause HIV-1-induced T cell cytopathicity and cell cycle arrest. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103 (9): 3369-74.
- [123] C.W. Arendt, D.R. Littman. HIV: master of the host cell. *Genome Biol* 2001;2 (11): REVIEWS1030.
- [124] S. Smith. The pathogenesis of HIV infection: stupid may not be so dumb after all. *Retrovirology* 2006;3: 60.
- [125] F. Kirchhoff, T.C. Greenough, D.B. Brettler, J.L. Sullivan, R.C. Desrosiers. Brief report: absence of intact nef sequences in a long-term survivor with nonprogressive HIV-1 infection. *N Engl J Med* 1995;332 (4): 228-32.
- [126] J.F. Arrighi, M. Pion, M. Wiznerowicz, T.B. Geijtenbeek, E. Garcia, S. Abraham, et al. Lentivirus-mediated RNA interference of DC-SIGN expression inhibits human immunodeficiency virus transmission from dendritic cells to T cells. *J Virol* 2004;78 (20): 10848–55.
- [127] J.M. Harouse, R.G. Collman, F. González-Scaran. Human immunodeficiency virus type 1 infection of SK-N-MC cells: domains of gp120 involved in entry into a CD4-negative, galactosyl ceramide/3' sulfo-galactosyl ceramide-positive cell line. *J Virol* 1995;69 (12): 7383– 90.
- [128] G.T. Parslow. Lymphocytes & Lymphoid Tissues. In: Medical Immunology. T.G. Parslow DPS, A.I.Terr, J.B. Imboden/ J.Foltin I. Nogueira, B. Holton, editors, editor. United States of America: McGraw-Hill Companies; 2001.
- [129] C.H. Swan , B.E. Torbett. Can gene delivery close the door to HIV-1 entry after escape? *J Med Primatol* 2006;35 (4-5): 236-47.
- [130] B. Cullen. A new entry route for HIV. *Nat Med* 2001;7 (1): 20-1.
- [131] K. Saha, J. Zhang, A. Gupta, R. Dave, M. Yimen, B. Zerhouni. Isolation of primary HIV-1 that target CD8+ T Lymphocytes using CD8 as a receptor. *Nat Med* 2001;7 (1): 65-72.
- [132] O. Cohen, C. Cicala, M. Vaccarezza, A.S. Fauci. The immunology of Human Immunodeficiency Virus infection. In: Mandell D, Bennett / G.L. Mandell, J.E. Bennett., R. Dolin, editor. Mandell, Douglas, Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. United States of America: Churchill Livingstone; 2000. p. 1374-87.
- [133] G.F. Brooks, J.S. Butel, S.A. Morse. Aids & Lentiviruses. In: G.F.Brooks JSB, S.A. Morse./ J. Ransom , J. Foltin and B. Holton, editor. Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology. United States of America: Lange Medical Books/ McGraw-Hill Companies, Inc; 2004. p. 605-21.

- [134] M. Tersmette, R.A. Gruters, F. Wolf, R.E. de Goede, J.M. Lange, P.T. Schellekens, et al. Evidence for a role of virulent human immunodeficiency virus (HIV) variants in the pathogenesis of acquired immunodeficiency syndrome: studies on sequential HIV isolates. *J Virol* 1989;63 (5): 2118-25.
- [135] J.A. Esté, C. Cabrera, J. Blanco, A. Gutierrez, G. Bridger, G. Henson, et al. Shift of clinical human immunodeficiency virus type 1 isolates from X4 to R5 and prevention of emergence of the syncytium-inducing phenotype by blockade of CXCR4. *J Virol* 1999;73 (7): 5577-85.
- [136] S. Crowe, T. Zhu, W.A. Muller. The contribution of monocyte infection and trafficking to viral persistence, and maintenance of the viral reservoir in HIV infection. *J Leukoc Biol* 2003;74 (5): 635-41.
- [137] N.A. Boon, N.R. Colledge, B.R. Walker, J. Hunter. *Davidson's Principles and Practice of Medicine*. Edinburgh; New York: Churchill Livingstone/Elsevier; 2006.
- [138] C.W. Lin, A. Engelman. The barrier-to-autointegration factor is a component of functional human immunodeficiency virus type 1 preintegration complexes. *J Virol* 2003;77 (8): 5030-6.
- [139] A.S. Fauci. Multifactorial nature of human immunodeficiency virus disease: implications for therapy. *Science* 1993;262 (5136): 1011-8.
- [140] N.L. Michael, M. Vahey, D.S. Burke, R.R. Redfield. Viral DNA and mRNA expression correlate with the stage of human immunodeficiency virus (HIV) type 1 infection in humans: evidence for viral replication in all stages of HIV disease. *J Virol* 1992;66 (1): 310-6.
- [141] V. Soriano, R. Martin, R. del, J. Castilla, F. Bru, R. Bravo, et al. Progresión rápida y lenta de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 en una población de sujetos seropositivos de Madrid. *Med Clin (Barc)* 1996;107 (20): 761-6.
- [142] A.S. Fauci, G. Pantaleo, S. Stanley, D. Weissman. Immunopathogenic mechanisms of HIV infection. *Ann Intern Med* 1996;124 (7): 654-63.
- [143] G. Rutherford, A. Lifson, N. Hessel, W. Darrow, P. O'Malley, S. Buchbinder, et al. Course of HIV-1 infection in a cohort of homosexual and bisexual men: an 11 year follow-up study. *Br Med J* 1990;301 (6762): 1183-8.
- [144] R. Moore, R. Chaisson. Natural history of opportunistic disease in an HIV-infected urban clinical cohort. *Ann Intern Med* 1996;124 (7): 633-42.
- [145] E. De Clerk. New Anti-HIV Agents and Targets. *Med Res Rev* 2002;22 (6): 531-65.
- [146] V. Nair. HIV integrase as a target for antiviral chemotherapy. *Rev Med Virol* 2002;12 (3): 179-93.
- [147] L. Musey, J. Hughes, T. Schacker, T. Shea, L. Corey, M.J. McElrath. Cytotoxic-T-cell responses, viral load, and disease progression in early human immunodeficiency virus type 1 infection. *N Engl J Med* 1997;337 (18): 1267-74.
- [148] M.C.J. Guarín, M.M.E. Fernández, R.M.T. López. Reacciones y alteraciones del sistema inmune durante la infección por el VIH-1. *Infection* 2006;10 (4): 250-65.
- [149] C.E. Mackewicz, E. Barker, J.A. Levy. Role of beta-chemokines in suppressing HIV replication. *Science* 1996;274 (5291): 1393-5.
- [150] H. Donaghy, A. Pozniak, B. Gazzard, N. Qazi, J. Gilmour, F. Gotch, et al. Loss of blood CD11c(+) myeloid and CD11c(-) plasmacytoid dendritic cells in patients with HIV-1 infection correlates with HIV-1 RNA virus load. *Blood* 2001;98 (8): 2574-6.
- [151] C. Mackewicz, E. Barker, J.A. Levy. Role of beta-chemokines in suppressing HIV replication. *Science* 1996;274 (5291): 1393-5.
- [152] D.D. Ho, A.U. Neumann, A.S. Perelson, W. Chen, J. Leonard, M. Markowitz. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature* 1995;373 (6510): 123-6.
- [153] T.W. Chun, L. Stuyver, S.B. Mizell, L.A. Ehler, J.A. Mican, M. Baseler, et al. Presence of an inducible HIV-1 latent reservoir during highly active antiretroviral therapy. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94 (24): 13193-7.

- [154] J.A. Zack, A.M. Haislip, P. Krogstad, I.S.Y. Chen. Incompletely reverse-transcribed human immunodeficiency virus type 1 genomes in quiescent cells can function as intermediates in the retroviral life cycle. *J Virol* 1992;66 (3): 1717-25.
- [155] Wildum S., Schindler M., Münch J., K. F. Contribution of Vpu, Env, and Nef to CD4 down-modulation and resistance of human immunodeficiency virus type 1-infected T cells to superinfection. *J Virol* 2006;80 (16): 8047- 59.
- [156] L. Meyaard, S. Otto, R. Jonker, M. Mijster, R. Keet, F. Miedema. Programmed death of T cells in HIV-1 infection. *Science* 1992;257 (5067): 217-9.
- [157] J. Imboden, W. Seaman. T Lymphocytes & Natural Killer Cells. In: T.G. Parslow DPS, A.I.Terr, J.B. Imboden/ J.Foltin I. Nogueira, B. Holton, editors, editor. *Medical Immunology United States of America: Lange Medical Books/ McGraw-Hill Companies*; 2001.
- [158] M. Saag, S.G. Deeks. How do HIV elite controllers do what they do? *Clin Inf Dis* 2010;51 (2): 239-41.
- [159] M. Clerici, A. Clivio, G.M. Shearer. Resistance to HIV: the genes are only part of the solution (Comment). *Trends Microbiol* 1997;5 (1): 2-4.
- [160] S. Broder, A.S. Fauci. Progress in drug therapies for HIV infection. *Public Health Rep* 1988;103 (3): 224-9.
- [161] R. DiFrancesco, D.T. Holland, J.E. Schiffauer, B.L. Robbins, K.M. Tooley, G.D. Morse. A quality assurance program for AIDS clinical trials group pharmacology studies. *Qual Assur J* 2005;9 (1): 22-30.
- [162] M.A. Fischl, D.D. Richman, M.H. Grieco, M.S. Gottlieb, P.A. Volberding, O.L. Laskin, et al. The efficacy of azidothymidine (AZT) in the treatment of patients with AIDS and AIDS - related complex: a double-blind, placebo-controlled trial. *N Engl J Med* 1987;317 (4): 185-91.
- [163] J. Brown. Approval of AZT. *Public Health Service* 1987.
- [164] D.D. Richman, M.A. Fischl, M.H. Grieco, M. Gottlieb, P. Volberding, O. Laskin, et al. The toxicity of azidothymidine (AZT) in the treatment of patients with AIDS and AIDS-related complex. A double-blind, placebo-controlled trial. *N Engl J Med* 1987;317 (4): 192-7.
- [165] E.M. Connor, R.S. Sperling, R. Gelber, P. Kiselev, G. Scott, M.J. O'Sullivan, et al. Reduction of maternal-infant transmission of human immunodeficiency virus type 1 with zidovudine treatment. Pediatric AIDS Clinical Trials Group Protocol 076 Study Group. *N Engl J Med* 1994;331 (18): 1173-80.
- [166] M. Saag. New and investigational antiretroviral drugs for HIV infection: mechanisms of action and early findings. *Top Antivir Med* 2012;20 (5): 162-7.
- [167] F.J. Palella, K. Delaney, A. Moorman, M. Loveless, J. Fuhrer, G. Satten, et al. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Outpatient Study Investigators. *N Engl J Med* 1998;338 (13): 853-60.
- [168] S.L. Gortmaker, M. Hughes, J. Cervia, M. Brady, G.M. Johnson, G.R. Seage, et al. Effect of combination therapy including protease inhibitors on mortality among children and adolescents infected with HIV-1. *N Engl J Med* 2001;345 (21): 1522-627.
- [169] Centers for Disease Control and Prevention. Report of the NIH panel to define principles of therapy of HIV infection. *MMWR* 1998;47 (RR-5): 1-41.
- [170] Centers for Disease Control and Prevention. USPHS/ISD Guidelines for the Prevention of Opportunistic Infections in Persons Infected with Human Immunodeficiency Virus: A Summary. *MMWR* 1995;44 (RR-8): 1-34.
- [171] S. Staszewski, J. Morales-Ramirez, K.T. Tashima, A. Rachlis, D. Skiest, J. Stanford, et al. Efavirenz plus zidovudine and lamivudine, efavirenz plus indinavir, and indinavir plus zidovudine and lamivudine in the treatment of HIV-1 infection in adults. Study 006 Team. *N Engl J Med* 1999;341 (25): 1865-73.

- [172] M.A. Thompson, J.A. Aberg, J.F. Hoy, A. Telenti, C. Benson, P. Cahn, et al. Antiretroviral treatment of adult HIV infection: 2012 recommendations of the International Antiviral Society-USA panel. *JAMA* 2012;308 (4): 387-402.
- [173] Brito MA. Fármacos recentes usados para o tratamento da infecção pelo HIV-1: enfuvirtida, maraviroc, raltegravir e etravirina. *Rev Ciênc Farm Básica Apl* 2011;32(2): 159-68.
- [174] M.P. Dube, D. Sprecher, W.K. Henry, J.A. Aberg, F.J. Torriani, H.N. Hodis, et al. Preliminary guidelines for the evaluation and management of dyslipidemia in adults infected with human immunodeficiency virus and receiving antiretroviral therapy: Recommendations of the Adult AIDS Clinical Trial Group Cardiovascular Disease Focus Group. *Clin Infect Dis* 2000;31 (5): 1216- 24.
- [175] J. Gathe, J. Cade, E. DeJesus, e. al. Primary analysis of cenicriviroc vs efavirenz, in combination with emtricitabine/tenofovir, in treatment-naïve HIV-1+ adults with CCR5-tropic virus. 20th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. Atlanta, Week-24, Abstract 106LB2013.
- [176] J. Marathe, D. Wooley. Is gene therapy a good therapeutic approach for HIV-positive patients? *Genet Vaccines Ther* 2007;5: 5.
- [177] M. Youle, S. Emery, M. Fisher, M. Nelson, L. Fosdick, G. Janossys, et al. A randomised trial of subcutaneous intermittent interleukin-2 without antiviral therapy in HIV-infected Patients: The UK-vanguard study. *PLoS Clin Trials* 2006;1 (1): e3.
- [178] G. Hardy, N. Imami, M. Nelson, A. Sullivan, R. Moss, M. Aasa-Chapman, et al. A phase I, randomized study of combined IL-2 and therapeutic immunisation with antiretroviral therapy. *J Immune Based Ther Vaccines* 2006;5: 6.
- [179] S. Hammer, M. Saag, M. Schechter, J. Montaner, R. Schooley, D. Jacobsen, et al. Treatment for Adult HIV Infection 2006 Recommendations of the International AIDS Society-USA Panel *JAMA* 2006;296 (7): 827-43.
- [180] R.W. Beisel. Impact of infectious disease upon fat metabolism and immune functions. *Cancer Res* 1981;41 (9 Pt 2): 3797-8.
- [181] R.K. Lister, M. Youle, D.R. Nair, A.F. Winder, M.H. Rustin. Latent dysbetalipoproteinaemia precipitated by HIV-protease inhibitors. *Lancet* 1999;353 (9165): 1678.
- [182] Y. Chuapai, S. Kiertiburanakul, K. Malathum, S. Sungkanuparph. Lipodystrophy and dyslipidemia in human immunodeficiency virus-infected Thai patients receiving antiretroviral therapy. *J Med Assoc Thai* 2007;90 (3): 452-8.
- [183] J.S. Currier, D.V. Havlir. Complications of HIV disease and antiretroviral therapy. *Top HIV Med* 2009;17 (2): 57-67.
- [184] E.M. Albuquerque, E.C. de Faria, H.C. Oliveira, D.O. Magro, L.N. Castilho. High frequency of Fredrickson's phenotypes IV and IIb in Brazilians infected by human immunodeficiency virus. *BMC Infect Dis* 2005;5 (1): 47.
- [185] P. Domingo, X. Matias-Guiu, R.M. Pujol, J.C. Domingo, J.A. Arroyo, M.A. Sambeat, et al. Switching to nevirapine decreases insulin levels but does not improve subcutaneous adipocyte apoptosis in patients with highly active antiretroviral therapy-associated lipodystrophy. *J Infect Dis* 2001;184 (9): 1197-201.
- [186] M. Schmitz, G.M. Michl, R. Walli, J. Bogner, A. Bedynek, D. Seidel, et al. Alterations of apolipoprotein B metabolism in HIV-infected patients with antiretroviral combination therapy. *J Acq Immun Def Synd* 2001;26 (3): 225-35.
- [187] J.M. Lenhard, E.S. Furfine, R.G. Jain, O. Ittoop, L.A. Orband-Miller, S.G. Blanchard, et al. HIV protease inhibitors block adipogenesis and increase lipolysis in vitro. *Antivir Res* 2000;47 (2): 121-9.
- [188] T.M. Riddle, D.G. Kuhel, L.A. Woollett, C.J. Fichtenbaum, D.Y. Hui. HIV protease inhibitor induces fatty acid and sterol biosynthesis in liver and adipose tissues due to the accumulation of activated sterol regulatory element-binding proteins in the nucleus. *J Biol Chem* 2001;276 (40): 37514-9.

- [189] M. Caron, M. Auclair, H. Sterlingot, M. Kornprobst, J. Capeau. Some HIV protease inhibitors alter lamin A/C maturation and stability, SREBP-1 nuclear localization and adipocyte differentiation. *AIDS* 2003;17 (17): 2437-44.
- [190] M. Lemoine, V. Barbu, P.M. Girard, M. Kim, J.P. Bastard, D. Wendum, et al. Altered hepatic expression of SREBP-1 and PPARgamma is associated with liver injury in insulin-resistant lipodystrophic HIV-infected patients. *AIDS* 2006;20 (3): 387-95.
- [191] K.R. Feingold, R.M. Krauss, M. Pang, W. Doerrler, P. Jensen, C. Grunfeld. The hypertriglyceridemia of acquired immunodeficiency syndrome is associated with an increased prevalence of low density lipoprotein subclass pattern B. *J Clin Endocr Metab* 1993;76 (6): 1423-7.
- [192] C.G. Morse, J.A. Kovacs. Metabolic and skeletal complications of HIV infection: the price of success. *JAMA* 2006;296 (7): 844-54.
- [193] J.Q. Purnell, A. Zambon, R.H. Knopp, D.J. Pizzuti, R. Achari, J.M. Leonard, et al. Effect of ritonavir on lipids and post-heparin lipase activities in normal subjects. *AIDS* 2000;14 (1): 51-7.
- [194] R. Rosso, A. Di Biagio. Evaluation of insulin resistance in a cohort of HIV-infected youth. *Curr Diab Rep* 2009;9 (4): 260-1.
- [195] K. Ouguerram, Y. Zair, S. Billon, M. Chetiveaux, C. Brunet-Francois, K. Ngohou-Bach, et al. Disturbance of apolipoprotein B100 containing lipoprotein metabolism in severe hyperlipidemic and lipodystrophic HIV patients on combined antiretroviral therapy: evidences of insulin resistance effect. *Med Chem* 2008;4 (6): 544-50.
- [196] N. Friis-Moller, C.A. Sabin, R. Weber, A. d'Arminio Monforte, W. El-Sadr, P. Reiss, et al. Combination antiretroviral therapy and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med* 2003;349 (21): 993-2003.
- [197] K.Y. Smith. Selected metabolic and morphologic complications associated with highly active antiretroviral therapy. *J Infect Dis* 2002;185 Suppl 2: S123-7.
- [198] R. Sherer. HIV, HAART, and hyperlipidemia: balancing the effects. *J Acq Immun Def Synd* 2003;34 (Suppl 2): S123-9.
- [199] P.E. Tarr, P. Taffe, G. Bleiber, E. al. Modeling the influence of APOC3, APOE, and TNF polymorphisms on the risk of antiretroviral therapy-associated lipid disorders. *J Infect Dis* 2005;191 (9): 1419-26.
- [200] A.M.M. Valente, A.F. Reis, D.M. Machado, R.C.M. Succi, A.R. Chacra. Alterações metabólicas da síndrome lipodistrófica do HIV. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2005;49 (6): 871-81.
- [201] A. Carr, K. Samaras, A. Thorisdottir, G.R. Kaufmann, D.J. Chisholm, D.A. Cooper. Diagnosis, prediction, and natural course of HIV-1 protease-inhibitor-associated lipodystrophy, hyperlipidaemia, and diabetes mellitus: a cohort study. *Lancet* 1999;353 (9170): 2093-9.
- [202] S.F.-P. Grigem, P. Debatin, K. M. Loizon, E. Vidal, H. Wabitsch, M. The effect of the HIV protease inhibitor ritonavir on proliferation, differentiation, lipogenesis, gene expression and apoptosis of human preadipocytes and adipocytes. *Horm Metab Res* 2005;37 (10): 602-9.
- [203] R. Ben-Romano, A. Rudich, D. Torok, S. Vanounou, K. Riesenberger, F. Schlaeffer, et al. Agent and cell-type specificity in the induction of insulin resistance by HIV protease inhibitors. *AIDS* 2003;17 (1): 23-32.
- [204] H. Murata, P.W. Hruz, M. Mueckler. The mechanism of insulin resistance caused by HIV protease inhibitor therapy. *J Biol Chem* 2000;275 (27): 20251-4.
- [205] W.A. Chow, S. Guo, F. Valdes-Albini. Nelfinavir induces liposarcoma apoptosis and cell cycle arrest by upregulating sterol regulatory element binding protein-1. *Anti-Cancer Drugs* 2006;17 (8): 891-903.
- [206] P. Domingo, F. Vidal, J.C. Domingo, S. Veloso, M.A. Sambeat, F. Torres, et al. Tumour necrosis factor alpha in fat redistribution syndromes associated with combination antiretroviral therapy in HIV-1-infected patients: potential role in subcutaneous adipocyte apoptosis. *Eur J Clin Invest* 2005;35 (12): 771-80.

- [207] K.A. Lichtenstein, K.M. Delaney, C. Armon, D.J. Ward, A.C. Moorman, K.C. Wood, et al. Incidence of and risk factors for lipoatrophy (abnormal fat loss) in ambulatory HIV-1-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2003;32 (1): 48-56.
- [208] G. Behrens, R.E. Schmidt. Síndrome de lipodistrofia. *HIV Medicine*, Edição Portuguesa 2005.
- [209] J.R. Bogner, V. Vielhauer, R.A. Beckmann, G. Michl, L. Wille, B. Salzberger, et al. Stavudine versus zidovudine and the development of lipodystrophy. *J Acq Immun Def Synd* 2001;27 (3): 237-44.
- [210] A.S. Foulkes, D.A. Wohl, I. Frank, E. Puleo, S. Restine, M.L. Wolfe, et al. Associations among race/ethnicity, ApoC-III genotypes, and lipids in HIV-1-infected individuals on antiretroviral therapy. *PLoS Med* 2006;3 (3): e52.
- [211] R. Palacios, J. Santos, J. Ruiz, M. Gonzalez, P. Valdivielso, M. Marquez, et al. Short-term lipid changes associated with highly active antiretroviral therapy in naive HIV-infected patients. *J Acq Immun Def Synd* 2003;34 (2): 249-51.
- [212] M.L. Green. Evaluation and management of dyslipidemia in patients with HIV infection. *J Gen Intern Med* 2002;17 (10): 797-810.
- [213] R. Thiebaut, F. Dabis, D. Malvy, H. Jacqmin-Gadda, P. Mercie, V. Valentin. Serum triglycerides, HIV infection, and highly active antiretroviral therapy, Aquitaine Cohort, France, 1996 to 1998. *Groupe d'Epidemiologie Clinique du Sida en Aquitaine (GECSA)*. *J Acq Immun Def Synd* 2000;23 (3): 261-5.
- [214] D. Rimland, J.L. Guest, I. Hernandez-Ramos, C. Del Rio, N.A. Le, W.V. Brown. Antiretroviral therapy in HIV-positive women is associated with increased apolipoproteins and total cholesterol. *J Acq Immun Def Synd* 2006;42 (3): 307-13.
- [215] Casqueiro J, Casqueiro J, A. C. Infections in patients with diabetes mellitus: A review of pathogenesis. *Indian J Endocrinol Metab* 2012;16 Suppl 1: S27-36.
- [216] K. Coppieters, T. Boettler, M. Von Herrath. Virus infections in type 1 diabetes. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2012;2 (1): a007682.
- [217] C. Naing, J. Mak, S. Ahmed, M. Maung. Relationship between hepatitis C virus infection and type 2 diabetes mellitus: meta-analysis. *World J Gastroentero* 2012;18 (14): 1642-51.
- [218] M. Caron, M. Auclair, C. Vigouroux, M. Glorian, C. Forest, J. Capeau. The HIV protease inhibitor indinavir impairs sterol regulatory element-binding protein-1 intranuclear localization, inhibits preadipocyte differentiation, and induces insulin resistance. *Diabetes* 2001;50 (6): 1378-88.
- [219] K. Samaras, S.K. Gan, P.W. Peake, A. Carr, L.V. Campbell. Proinflammatory markers, insulin sensitivity, and cardiometabolic risk factors in treated HIV infection. *Obesity* 2009;17 (1): 53-9.
- [220] P. Cahn, O. Leite, A. Rosales, R. Cabello, C.A. Alvarez, C. Seas, et al. Metabolic profile and cardiovascular risk factors among Latin American HIV-infected patients receiving HAART. *Braz J Infect Dis* 2010;14 (2): 158-66.
- [221] Y.C. Lo, M.Y. Chen, W.H. Sheng, S.M. Hsieh, H.Y. Sun, W.C. Liu, et al. Risk factors for incident diabetes mellitus among HIV-infected patients receiving combination antiretroviral therapy in Taiwan: a case-control study. *HIV Med* 2009;10 (5): 302-9.
- [222] T.T. Brown, S.R. Cole, X. Li, L.A. Kingsley, F.J. Palella, S.A. Riddler, et al. Antiretroviral therapy and the prevalence and incidence of diabetes mellitus in the multicenter AIDS cohort study. *Arch Intern Med* 2005;165 (10): 1179-84.
- [223] L. Rasmussen, E. Mathiesen, G. Kronborg, C. Pedersen, J. Gerstoft, N. Obel. Risk of diabetes mellitus in persons with and without HIV: a Danish nationwide population-based cohort study. *PLoS One* 2012;7 (9): e44575.
- [224] S.C. Tyagi, L.M. Smiley, V.S. Mujumdar, B. Clonts, J.L. Parker. Reduction-oxidation (Redox) and vascular tissue level of homocyst(e)ine in human coronary atherosclerotic lesions and role in extracellular matrix remodeling and vascular tone. *Mol Cell Biochem* 1998;181 (1-2): 107-16.

- [225] R. Zanuto Pereira, W. Lima, L. Carnevali Jr, F. Lorenzetti. Metabolismo celular. Biologia e Bioquímica bases aplicadas às Ciências da Saúde. Brasil: Phorte editora; 2011. p. 209-10.
- [226] V.J. Thannickal. The paradox of reactive oxygen species: injury, signaling, or both? *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2003;284 (1): L24-5.
- [227] B.P. Yu. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev* 1994;74 (1): 139-62.
- [228] B. Kalyanaraman. Teaching the basics of redox biology to medical and graduate students: Oxidants, antioxidants and disease mechanisms. *Redox Biology* 2013;1 (1): 244-57.
- [229] M.F. Beal. Aging, energy, and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Ann Neurol* 1995;38 (3): 357-66.
- [230] T. Ito, K. Yufu, A. Mori, L. Packer. Oxidative stress alters arginine metabolism in rat brain: effect of sub-convulsive hyperbaric oxygen exposure. *Neurochem Int* 1996;29 (2): 187-95.
- [231] A. Carr, K. Samaras, S. Burton, M. Law, J. Freund, D.J. Chisholm, et al. A syndrome of peripheral lipodystrophy, hyperlipidaemia and insulin resistance in patients receiving HIV protease inhibitors. *AIDS* 1998;12 (7): F51-8.
- [232] J. Cabrera, R.J. Reiter, D.X. Tan, W. Qi, R.M. Sainz, J.C. Mayo, et al. Melatonin reduces oxidative neurotoxicity due to quinolinic acid: in vitro and in vivo findings. *Neuropharmacology* 2000;39 (3): 507-14.
- [233] J. Zou, J.F. Ainscough, W. Yang, A. Sedo, S.P. Yu, Z.Z. Mei, et al. A differential role of macrophage TRPM2 channels in  $Ca^{2+}$  signaling and cell death in early responses to  $H_2O_2$ . *Am J Physiol Cell Physiol* 2013;305 (1): C61-9.
- [234] M. Valko, C.J. Rhodes, J. Moncol, M. Izakovic, M. Mazur. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact* 2006;160 (1): 1-40.
- [235] M. Valko, D. Leibfritz, J. Moncol, M.T. Cronin, M. Mazur, J. Telser. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2007;39 (1): 44-84.
- [236] P.M. Roger, G. Bernard-Pomier, E. Counillon, J.P. Breittmayer, A. Bernard, P. Dellamonica. Overexpression of Fas/CD95 and Fas-induced apoptosis in a patient with idiopathic CD4<sup>+</sup> T lymphocytopenia. *Clin Infect Dis* 1999;28 (5): 1012-6.
- [237] W.E. Stehbens. Oxidative stress in viral hepatitis and AIDS. *Exp Mol Pathol* 2004;77 (2): 121-32.
- [238] G. Ferretti, T. Bacchetti. Peroxidation of lipoproteins in multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 2011;311 (1-2): 92-7.
- [239] M. Bonnefoy, J. Draï, T. Kostka. Antioxidants to slow aging, facts and perspectives. *Presse Med* 2002;31 (25): 1174-84.
- [240] H.K. Biesalski, J. Frank. Antioxidants in nutrition and their importance in the anti-/oxidative balance in the immune system. *Immun Infekt* 1995;23 (5): 166-73.
- [241] G. Chan, J. Collins, T. Horn. Antioxidants may still have a role in HIV treatment. *GMHC Treat Issues* 1997;11 (9): 6-12.
- [242] M. Sundaram, S. Saghayam, B. Priya, K.K. Venkatesh, P. Balakrishnan, E.M. Shankar, et al. Changes in antioxidant profile among HIV-infected individuals on generic highly active antiretroviral therapy in southern India. *Int J Infect Dis* 2008;12 (6): e61-e6.
- [243] Y.K. On, H.S. Kim, S.Y. Kim, I.H. Chae, B.H. Oh, M.M. Lee, et al. Vitamin C prevents radiation-induced endothelium-dependent vasomotor dysfunction and de-endothelialization by inhibiting oxidative damage in the rat. *Clin Exp Pharmacol P* 2001;28 (10): 816-21.
- [244] C.C. Lin, M.C. Yin. B vitamins deficiency and decreased anti-oxidative state in patients with liver cancer. *Eur J Nutr* 2007;46 (5): 293-9.
- [245] V.B. Bhat, K.M. Madyastha. Antioxidant and radical scavenging properties of 8-oxo derivatives of xanthine drugs pentoxifylline and lisofylline. *Biochem Bioph Res Co* 2001;288 (5): 1212-7.

- [246] B. Krijgsman, J.A. Papadakis, E.S. Ganotakis, D.P. Mikhailidis, G. Hamilton. The effect of peripheral vascular disease on the serum levels of natural anti-oxidants: bilirubin and albumin. *Int Angiol* 2002;21 (1): 44-52.
- [247] L. Shen, R.F. Siliciano. Viral reservoirs, residual viremia, and the potential of highly active antiretroviral therapy to eradicate HIV infection. *J Allergy Clin Immunol* 2008;122 (1): 22-8.
- [248] B. Beutler. The presence of cachectin/tumor necrosis factor in human disease states. *Am J Med* 1988;85 (3): 287-8.
- [249] S. Swingler, A. Easton, A. Morris. Cytokine augmentation of HIV-1 LTR-driven gene expression in neural cells. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1992;8 (4): 487-93.
- [250] H. Kitaura, N. Ohara, K. Kobayashi, T. Yamada. TNF-alpha-mediated activation of HIV-1 LTR in monocytoic cells by mycobacteria. *FEMS Immunol Med Mic* 2001;31 (2): 97-103.
- [251] T. Collins, M.I. Cybulsky. NF-kB: pivotal mediator or innocent bystander in atherogenesis? *J Clin Invest* 2001;107 (3): 255-64.
- [252] P. Libby. Inflammatory mechanisms: the molecular basis of inflammation and disease. *Nutr Rev* 2007;65 (12 Pt 2): S140-6.
- [253] M.J. Christensen, E.T. Nartey, A.L. Hada, R.L. Legg, B.R. Barzee. High selenium reduces NF-kappaB-regulated gene expression in uninduced human prostate cancer cells. *Nutr Cancer* 2007;58 (2): 197-204.
- [254] A. Denk, M. Goebeler, S. Schmid, I. Berberich, O. Ritz, D. Lindemann, et al. Activation of NF-kB via the Ikb Kinase Complex Is Both Essential and Sufficient for Proinflammatory Gene Expression in Primary Endothelial Cells. *J Biol Chem* 2001;276 (30): 28451-8.
- [255] R.A. Roberts, R.A. Smith, S. Safe, C. Szabo, R.B. Tjalkens, F.M. Robertson. Toxicological and pathophysiological roles of reactive oxygen and nitrogen species. *Toxicology* 2010;276 (2): 85-94.
- [256] R. Kohen, A. Nyska. Invited review: oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicol Pathol* 2002;30 (6): 620-50.
- [257] N. Apostolova, L.J. Gomez-Sucerquia, A. Moran, A. Alvarez, A. Blas-Garcia, J.V. Esplugues. Enhanced oxidative stress and increased mitochondrial mass during efavirenz-induced apoptosis in human hepatic cells. *Br J Pharmacol* 2010;160 (8): 2069-84.
- [258] S. Swingler, A. Morris, A. Easton. Tumour necrosis factor alpha and interleukin-1 beta induce specific subunits of NFkB to bind the HIV-1 enhancer: characterisation of transcription factors controlling human immunodeficiency virus type 1 gene expression in neural cells. *Biochem Bioph Res Commun* 1994;203 (1): 623-30.
- [259] M.K. Baum, G. Shor-Posner, A. Campa. Zinc status in human immunodeficiency virus infection. *J Nutr* 2000;130 (5S Suppl): 1421S-3S.
- [260] J.S. Lanzillotti, A.M. Tang. Micronutrients and HIV disease: a review pre- and post-HAART. *Nutr Clin Care* 2005;8 (1): 16-23.
- [261] M.K. Baum, G. Shor-Posner. Micronutrient status in relationship to mortality in HIV-1 disease. *Nutr Rev* 1998;56 (1 Pt 2): S135-9.
- [262] S.M. Grundy, J.I. Cleeman, S.R. Daniels, K.A. Donato, R.H. Eckel, B.A. Franklin, et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: An American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute scientific statement. *Curr Opin Cardiol* 2006;21 (1): 1-6.
- [263] K. Alberti, P. Zimmet, J. Shaw. The metabolic syndrome--a new worldwide definition. *Lancet* 2005;366 (9491): 1059-62.
- [264] J.S. Stamler, J.A. Osborne, O. Jaraki, L.E. Rabbani, M. Mullins, D. Singel, et al. Adverse vascular effects of homocysteine are modulated by endothelium-derived relaxing factor and related oxides of nitrogen. *J Clin Invest* 1993;91 (1): 308-18.
- [265] C.E. Ayres-Sander, H. Lauridsen, C.L. Maier, P. Sava, J.S. Pober, A.L. Gonzalez. Transendothelial migration enables subsequent transmigration of neutrophils through underlying pericytes. *PLoS One* 2013;8 (3): e60025.



- [266] I.M. Fenyo, A.V. Gafencu. The involvement of the monocytes/macrophages in chronic inflammation associated with atherosclerosis. *Immunobiology* 2013;218 (11): 1376-84.
- [267] W.A. Carvalho, R.D.S. Carvalho, F. Rios-Santos. Analgésicos inibidores específicos da ciclooxigenase-2: avanços terapêuticos. *Rev Bras Anesthesiol* 2004;54: 448-64.
- [268] G. Francisco, C. Hernandez, R. Simo. Serum markers of vascular inflammation in dyslipemia. *Clin Chim Acta* 2006;369 (1): 1-16.
- [269] C.T. Montague, J.B. Prins, L. Sanders, J. Zhang, C.P. Sewter, J. Digby, et al. Depot-related gene expression in human subcutaneous and omental adipocytes. *Diabetes* 1998;47 (9): 1384-91.
- [270] P. Arner. Differences in lipolysis between human subcutaneous and omental adipose tissues. *Ann Med* 1995;27 (4): 435-8.
- [271] P. Arner. Human fat cell lipolysis: biochemistry, regulation and clinical role. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2005;19 (4): 471-82.
- [272] H. Ruan, H.F. Lodish. Insulin resistance in adipose tissue: direct and indirect effects of tumor necrosis factor- $\alpha$ . *Cytokine Growth F R* 2003;14 (5): 447-55.
- [273] R. Schreck, P. Rieber, P.A. Baeuerle. Reactive oxygen intermediates as apparently widely used messengers in the activation of the NF- $\kappa$ B transcription factor and HIV-1. *EMBO J* 1991;10 (8): 2247-58.
- [274] L. Soriano-Guillen, B. Hernandez-Garcia, J. Pita, N. Dominguez-Garrido, G. Del Rio-Camacho, A. Rovira. High-sensitivity C-reactive protein is a good marker of cardiovascular risk in obese children and adolescents. *Eur J Endocrinol* 2008;159 (1): R1-4.
- [275] P.K. Drain, R. Kupka, F. Mugusi, W.W. Fawzi. Micronutrients in HIV-positive persons receiving highly active antiretroviral therapy. *Am J Clin Nutr* 2007;85 (2): 333-45.
- [276] P. Marques-Vidal, E. Mazoyer, V. Bongard, P. Gourdy, J. Ruidavets, L. Drouet, et al. Prevalence of insulin resistance syndrome in Southwestern France and its relationship with inflammatory and hemostatic markers. *Diabetes Care* 2002;25: 1371 - 7.
- [277] E.S. Ford. The metabolic syndrome and C-reactive protein, fibrinogen, and leukocyte count: findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Atherosclerosis* 2003;168 (2): 351-8.
- [278] M.K. Rutter, J.B. Meigs, L.M. Sullivan, R.B. D'Agostino, Sr., P.W. Wilson. C-reactive protein, the metabolic syndrome, and prediction of cardiovascular events in the Framingham Offspring Study. *Circulation* 2004;110 (4): 380-5.
- [279] P.M. Ridker. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation* 2003;107 (3): 363-9.
- [280] V. Pasceri, J.T. Willerson, E.T. Yeh. Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation* 2000;102 (18): 2165-8.
- [281] S. Ishikawa, K. Kayaba, T. Gotoh, Y. Nakamura, E. Kajii. Metabolic syndrome and C-reactive protein in the general population: JMS Cohort Study. *Circ J* 2007;71 (1): 26-31.
- [282] M. Ray, L. Kumar, R. Prasad. Plasma zinc status in Indian childhood tuberculosis: impact of antituberculosis therapy. *Int J Tuberc Lung D* 1998;2 (9): 719-25.
- [283] K. Ramakrishnan, R. Shenbagarathai, K. Kavitha, A. Uma, R. Balasubramanian, P. Thirumalaikolundusubramanian. Serum zinc and albumin levels in pulmonary tuberculosis patients with and without HIV. *Jpn J Infect Dis* 2008;61 (3): 202-4.
- [284] E. Karyadi, W. Schultink, R.H. Nelwan, R. Gross, Z. Amin, W.M. Dolmans, et al. Poor micronutrient status of active pulmonary tuberculosis patients in Indonesia. *J Nutr* 2000;130 (12): 2953-8.
- [285] J.K. Berry, C.L. Baum. Malnutrition in chronic obstructive pulmonary disease: adding insult to injury. *AACN Clin Issues* 2001;12 (2): 210-9.
- [286] T. Niyongabo, D. Henzel, M. Idi, S. Nimubona, E. Gikoro, J.C. Melchior, et al. Tuberculosis, human immunodeficiency virus infection, and malnutrition in Burundi. *Nutrition* 1999;15 (4): 289-93.

- [287] T. Niyongabo, D. Henzel, J.M. Ndayishimiye, J.C. Melchior, A. Ndayiragije, J.B. Ndiwokubwayo, et al. Nutritional status of adult inpatients in Bujumbura, Burundi (impact of HIV infection). *Eur J Clin Nutr* 1999;53 (7): 579-82.
- [288] C. Mhiri, L. Belec, B. Di Costanzo, A. Georges, R. Gherardi. The slim disease in African patients with AIDS. *T Roy Soc Trop Med H* 1992;86 (3): 303-6.
- [289] M.K. Baum, G. Shor-Posner, Y. Lu, B. Rosner, H.E. Sauberlich, M.A. Fletcher, et al. Micronutrients and HIV-1 disease progression. *AIDS* 1995;9 (9): 1051-6.
- [290] R.D. Semba, A.M. Tang. Micronutrients and the pathogenesis of human immunodeficiency virus infection. *Brit J Nutr* 1999;81 (3): 181-9.
- [291] A.M. Tang, N.M. Graham, A.J. Kirby, E. al. Dietary micronutrient intake and risk of progression to acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) in human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1)-infected homosexual men. *Am J Epidemiol* 1993;138 (11): 937-51.
- [292] J.D. Bogden, J.M. Oleske. The essential trace minerals, immunity, and progression of HIV-1 infection. *Nutr Res* 2007;27 (2): 69-77.
- [293] A. Kalkan, V. Bulut, S. Avci, I. Celik, N.K. Bingol. Trace elements in viral hepatitis. *J Trace Elem Med Biol* 2002;16 (4): 227-30.
- [294] A.P. Gasparis, A.K. Tassiopoulos. Nutritional support in the patient with HIV infection. *Nutrition* 2001;17 (11-12): 981-2.
- [295] S. Harakeh, R.J. Jariwalla. Ascorbate effect on cytokine stimulation of HIV production. *Nutrition* 1995;11 (5 Suppl): 684-7.
- [296] P.J. Cimoch. Nutritional health: prevention and treatment of HIV-associated malnutrition. A case manager's guide. *J Int Assoc Phys AIDS Care* 1997;3 (5): 28-40.
- [297] M. Coors, U. Suttman, P. Trimbom, J. Ockenga, M.J. Muller, O. Selberg. Acute phase response and energy balance in stable human immunodeficiency virus-infected patients: a doubly labeled water study. *J Lab Clin Med* 2001;138 (2): 94-100.
- [298] N.S. Scrimshaw, J.P. SanGiovanni. Synergism of nutrition, infection, and immunity: an overview. *Am J Clin Nutr* 1997;66 (2): 464S-77S.
- [299] E. Aghdassi, I.E. Salit, L. Fung, L. Sreetharan, S. Walmsley, J.P. Allard. Is chromium an important element in HIV-positive patients with metabolic abnormalities? An hypothesis generating pilot study. *J Am Coll Nutr* 2006;25 (1): 56-63.
- [300] J. Constans, J.L. Pellegrin, E. Peuchant, M.F. Thomas, M.F. Dumon, C. Sergeant, et al. Membrane fatty acids and blood antioxidants in 77 patients with HIV infection. *Rev Med Interne* 1993;14 (10): 1003.
- [301] M. Ferencik, L. Ebringer. Modulatory effects of selenium and zinc on the immune system. *Folia Microbiol (Praha)* 2003;48 (3): 417-26.
- [302] A.S. Prasad. Zinc: role in immunity, oxidative stress and chronic inflammation. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2009;12 (6): 646-52.
- [303] H. Haase, L. Rink. The immune system and the impact of zinc during aging. *Immun Ageing* 2009;6: 9.
- [304] H. Lai, S. Lai, G. Shor-Posner, F. Ma, E. Trapido, M.K. Baum. Plasma zinc, copper, copper:zinc ratio, and survival in a cohort of HIV-1-infected homosexual men. *J Acq Immun Def Synd* 2001;27 (1): 56-62.
- [305] R.A. Anderson. Chromium and polyphenols from cinnamon improve insulin sensitivity. *Proc Nutr Soc* 2008;67 (1): 48-53.
- [306] C.M. Davis, K.H. Sumrall, J.B. Vincent. A biologically active form of chromium may activate a membrane phosphotyrosine phosphatase (PTP). *Biochemistry* 1996;35 (39): 12963-9.
- [307] C.M. Davis, J.B. Vincent. Chromium oligopeptide activates insulin receptor tyrosine kinase activity. *Biochemistry* 1997;36 (15): 4382-5.
- [308] R.A. Roth, F. Liu, J.E. Chin. Biochemical mechanisms of insulin resistance. *Horm Res* 1994;41 Suppl 2: 51-5.

- [309] J.D. Bogden, F.W. Kemp, S. Han, W. Li, K. Bruening, T. Denny, et al. Status of selected nutrients and progression of human immunodeficiency virus type 1 infection. *Am J Clin Nutr* 2000;72 (3): 809-15.
- [310] G.S. Sacks. Micronutrients: too much or not enough? *Nutr Clin Pract* 2003;18 (5): 352.
- [311] Y.A. Gryzunov, A. Arroyo, J.L. Vigne, Q. Zhao, V.A. Tyurin, C.A. Hubel, et al. Binding of fatty acids facilitates oxidation of cysteine-34 and converts copper-albumin complexes from antioxidants to prooxidants. *Arch Biochem Biophys* 2003;413 (1): 53-66.
- [312] S. Maggini, E.S. Wintergerst, S. Beveridge, D.H. Hornig. Selected vitamins and trace elements support immune function by strengthening epithelial barriers and cellular and humoral immune responses. *Br J Nutr* 2007;98 Suppl 1: S29-35.
- [313] H. Tapiero, D.M. Townsend, K.D. Tew. Trace elements in human physiology and pathology. Copper. *Biomed Pharmacother* 2003;57 (9): 386-98.
- [314] R. Ikee, M. Tsunoda, N. Sasaki, N. Sato, N. Hashimoto. Clinical factors associated with serum copper levels and potential effect of sevelamer in hemodialysis patients. *Int Urol Nephrol* 2013;45 (3): 839-45.
- [315] E.S. Wintergerst, S. Maggini, D.H. Hornig. Contribution of selected vitamins and trace elements to immune function. *Ann Nutr Metab* 2007;51 (4): 301-23.
- [316] J.D. Bogden, D.I. Lintz, M.M. Joselow, J. Charles, J.S. Salaki. Copper/zinc ratios in whole blood, plasma, and erythrocytes in pulmonary tuberculosis. *Health Lab Sci* 1978;15 (1): 38-43.
- [317] M.K. Baum. Nutritional alterations in high-risk groups in relationship to HIV-1 disease progression. *Nutrition* 1996;12 (2): 124-5.
- [318] A. Campa, G. Shor-Posner, M. Baum. Selenium status and the human immunodeficiency virus. *J Am Diet Assoc* 2000;100 (4): 418.
- [319] J.M. Chan, W.K. Oh, W. Xie, M.M. Regan, M.J. Stampfer, I.B. King, et al. Plasma selenium, manganese superoxide dismutase, and intermediate- or high-risk prostate cancer. *J Clin Oncol* 2009.
- [320] K.F. Groenbaek, H.Hansen, M.Ring-Larsen, H.Krørup, H. B. The effect of antioxidant supplementation on hepatitis C viral load, transaminases and oxidative status: a randomized trial among chronic hepatitis C virus-infected patients. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2006;18 (9): 985-9.
- [321] C.C. Lin, J.F. Huang, L.Y. Tsai, Y.L. Huang. Selenium, iron, copper, and zinc levels and copper-to-zinc ratios in serum of patients at different stages of viral hepatic diseases. *Biol Trace Elem Res* 2006;109 (1): 15-24.
- [322] M.K. Baum, G. Shor-Posner, P. Bonvehí, I. Cassetti, Y. Lu, E. Mantero-Atienza, et al. Influence of HIV infection on vitamin status and requirements. *Ann NY Acad Sci* 1992;669: 165-73; discussion 73-4.
- [323] M.P. Rayman. The importance of selenium to human health. *Lancet* 2000;356 (9225): 233-41.
- [324] K.M. Hendricks, M. Sansavero, R.F. Houser, A.M. Tang, C.A. Wanke. Dietary supplement use and nutrient intake in HIV-infected persons. *AIDS Read* 2007;17 (4): 211-6, 23-7.
- [325] A. Campa, G. Shor-Posner, F. Indacochea, G. Zhang, H. Lai, D. Asthana, et al. Mortality risk in selenium-deficient HIV-positive children. *J Acq Immun Def Synd* 1999;20 (5): 508-13.
- [326] M.K. Baum, M.J. Miguez-Burbano, A. Campa, G. Shor-Posner. Selenium and interleukins in persons infected with human immunodeficiency virus type 1. *J Infect Dis* 2000;182 Suppl 1: S69-73.
- [327] M.K. Baum. Role of micronutrients in HIV-infected intravenous drug users. *J Acq Immun Def Synd* 2000;25 (Suppl 1): S49-52.
- [328] B.E. Hurwitz, J.R. Klaus, M.M. Llabre, A. Gonzalez, P.J. Lawrence, K.J. Maher, et al. Suppression of human immunodeficiency virus type 1 viral load with selenium supplementation: a randomized controlled trial. *Arch Intern Med* 2007;167 (2): 148-54.

- [329] G. Shor-Posner, M.J. Miguez, L.M. Pineda, A. Rodriguez, P. Ruiz, G. Castillo, et al. Impact of selenium status on the pathogenesis of mycobacterial disease in HIV-1-infected drug users during the era of highly active antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2002;29 (2): 169-73.
- [330] T.E. Kehl-Fie, E.P. Skaar. Nutritional immunity beyond iron: a role for manganese and zinc. *Curr Opin Chem Biol* 2010;14 (2): 218-24.
- [331] A.L. Wolfe, P.J. Felock, J.C. Hastings, C.U. Blau, D.J. Hazuda. The role of manganese in promoting multimerization and assembly of human immunodeficiency virus type 1 integrase as a catalytically active complex on immobilized long terminal repeat substrates. *J Virol* 1996;70 (3): 1424-32.
- [332] E.C. Bolton, A.S. Mildvan, J.D. Boeke. Inhibition of reverse transcription in vivo by elevated manganese ion concentration. *Mol Cell* 2002;9 (4): 879-89.
- [333] G. Shor-Posner, M.K. Baum. Nutritional alterations in HIV-1 seropositive and seronegative drug users. *Nutrition* 1996;12 (7-8): 555-6.
- [334] J.L. Aschner, M. Aschner. Nutritional aspects of manganese homeostasis. *Mol Aspects Med* 2005;26 (4-5): 353-62.
- [335] S.C. Flores, J.C. Marecki, K.P. Harper, S.K. Bose, S.K. Nelson, J.M. McCord. Tat protein of human immunodeficiency virus type 1 represses expression of manganese superoxide dismutase in HeLa cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993;90 (16): 7632-6.
- [336] V. Venketaraman, Y.K. Dayaram, M.T. Talaue, N.D. Connell. Glutathione and nitrosoglutathione in macrophage defense against *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Immun* 2005;73 (3): 1886-9.
- [337] W.B. Santos, E.T. Mesquita, R.M.R. Vieira, B. Olej, M. Coutinho, A. Avezum. Proteína-C-reativa e doença cardiovascular: as bases da evidência científica. *Arq Bras Cardiol* 2003;80: 452-6.
- [338] C. Meisinger, J. Baumert, N. Khuseynova, H. Loewel, W. Koenig. Plasma oxidized low-density lipoprotein, a strong predictor for acute coronary heart disease events in apparently healthy, middle-aged men from the general population. *Circulation* 2005;112 (5): 651-7.
- [339] A. Menéndez Cabezas, J.E. Fernández-Britto Rodríguez. Metabolismo de la homocisteína y su relación con la aterosclerosis. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas* 1999;18: 155-68.
- [340] S. von Haehling, J.C. Schefold, M. Lainscak, W. Doehner, S.D. Anker. Inflammatory biomarkers in heart failure revisited: much more than innocent bystanders. *Heart Fail Clin* 2009;5 (4): 549-60.
- [341] B. Sengupta, C.A. Narasimhulu, S. Parthasarathy. Novel technique for generating macrophage foam cells for in vitro reverse cholesterol transport studies. *J Lipid Res* 2013;54 (12): 3358-72.
- [342] S. Hua. Targeting sites of inflammation: Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) as a target for novel inflammatory therapies. *Front Pharmacol* 2013;4.
- [343] M.S.V. Elkind. Inflammation, atherosclerosis, and stroke. *Neurologist* 2006;12 (3): 140-8.
- [344] S.H. Yang, Y.T. Li, D.Y. Du. Oxidized low-density lipoprotein-induced CD147 expression and its inhibition by high-density lipoprotein on platelets in vitro. *Thromb Res* 2013;132 (6): 702-11.
- [345] Y. Cheng, T. Cui, P. Fu, F. Liu, L. Zhou. Dyslipidemia is associated with tunneled-cuffed catheter-related central venous thrombosis in hemodialysis patients: a retrospective, multicenter study. *Artif Organs* 2013;37 (8): E155-61.
- [346] W.T. Wong, N.F. Huang, C.M. Botham, N. Sayed, J.P. Cooke. Endothelial cells derived from nuclear reprogramming. *Circul Res* 2012;111 (10): 1363-75.
- [347] J.M. McKenney. Update on the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III guidelines: getting to goal. *Pharmacotherapy* 2003;23 (9 Pt 2): 26s-33s.
- [348] C. Zhou, J. Wu, S. Fang. Meta-analysis of B vitamin supplementation on plasma homocysteine, cardiovascular and all-cause mortality. *Clin Nutr* 2013;32 (2): 314.
- [349] M.C. Carey, D.E. Donovan, O. FitzGerald, F.D. McAuley. Homocystinuria. I. A clinical and pathological study of nine subjects in six families. *Am J Med* 1968;45 (1): 7-25.

- [350] D. Hrnčić, A. Rašić-Marković, D. Macut, V. Šušić, D. Djuric, O. Stanojlović. Homocysteine thiolactone-induced seizures in adult rats are aggravated by inhibition of inducible nitric oxide synthase. *Hum Exp Toxicol* 2013.
- [351] D.W. Jacobsen. Homocysteine and vitamins in cardiovascular disease. *Clin Chem* 1998;44 (8 Pt 2): 1833-43.
- [352] P. Chen, R. Poddar, E.V. Tipa, P.M. Dibello, C.D. Moravec, K. Robinson, et al. Homocysteine metabolism in cardiovascular cells and tissues: implications for hyperhomocysteinemia and cardiovascular disease. *Adv Enzyme Regul* 1999;39: 93-109.
- [353] F. Abbasi, F. Facchini, M.H. Humphreys, G.M. Reaven. Plasma homocysteine concentrations in healthy volunteers are not related to differences in insulin-mediated glucose disposal. *Atherosclerosis* 1999;146 (1): 175-8.
- [354] J.F. Toole, M.R. Malinow, L.E. Chambless, J.D. Spence, L.C. Pettigrew, V.J. Howard, et al. Lowering homocysteine in patients with ischemic stroke to prevent recurrent stroke, myocardial infarction, and death: the Vitamin Intervention for Stroke Prevention (VISP) randomized controlled trial. *JAMA* 2004;291 (5): 565-75.
- [355] M. Crook. The basis and management of metabolic abnormalities associated with cardiovascular risk in human immunodeficiency virus infection and its treatment. *Ann Clin Biochem* 2007;44 (3): 219-31.
- [356] M.G. Law, N. Friis-Moller, W.M. El-Sadr, R. Weber, P. Reiss, A. D'Arminio Monforte, et al. The use of the Framingham equation to predict myocardial infarctions in HIV-infected patients: comparison with observed events in the D:A:D Study. *HIV Med* 2006;7 (4): 218-30.
- [357] G.H. Schernthaner, C. Plank, E. Minar, C. Bieglmayer, R. Koppensteiner, G. Schernthaner. No effect of homocysteine-lowering therapy on vascular inflammation and haemostasis in peripheral arterial occlusive disease. *Eur J Clin Invest* 2006;36 (5): 333-9.
- [358] E. Coria-Ramirez, L.N. Cisneros, S. Trevino-Perez, I. Ibarra-Gonzalez, J. Casillas-Rodriguez, A. Majluf-Cruz. Effect of highly active antiretroviral therapy on homocysteine plasma concentrations in HIV-1-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2010;54 (5): 477-81.
- [359] J. Yin, M. Li, L. Xu, Y. Wang, H. Cheng, X. Zhao, et al. Insulin resistance determined by Homeostasis Model Assessment (HOMA) and associations with metabolic syndrome among Chinese children and teenagers. *Diabetol Metab Syndr* 2013;5 (1): 71.
- [360] N.J. Miller, C. Rice-Evans, M.J. Davies, V. Gopinathan, A. Milner. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin Sci (Lond)* 1993;84 (4): 407-12.
- [361] M.S. Pepe, G.L. Anderson. A cautionary note on inference for marginal regression-models with longitudinal data and general correlated response data. *Commun Stat Simulat* 1994;23 (4): 939-51.
- [362] M. Duro, R. Sarmento-Castro, C. Almeida, R. Medeiros, I. Rebelo. Lipid profile changes by high activity anti-retroviral therapy. *Clin Biochem* 2013;46 (9): 740-4.
- [363] É.F.R.d. Silva, K.C. Bassichetto, D.S. Lewi. Perfil lipídico, fatores de risco cardiovascular e síndrome metabólica em um grupo de pacientes com AIDS. *Arq Bras Cardiol* 2009;93: 113-8.
- [364] A. Mittal, B. Achappa, D. Madi, M.N. Chowta, J.T. Ramapuram, S. Rao, et al. The development of metabolic risk factors after the initiation of the second line anti- retroviral therapy. *J Clin Diagn Res* 2013;7 (2): 265-8.
- [365] C. Daniyam, M. Iroezindu. Lipid profile of anti-retroviral treatment-naive HIV-infected patients in Jos, Nigeria. *Ann Med Health Sci Res* 2013;3 (1): 26-30.
- [366] G. Teto, G.D. Kanmogne, J.N. Torimiro, G. Alemlji, F.N. Nguemaim, D. Takou, et al. Lipid peroxidation and total cholesterol in HAART-naive patients infected with circulating recombinant forms of human immunodeficiency virus type-1 in Cameroon. *PLoS One* 2013;8 (6): e65126.

- [367] C. Alonso-Villaverde, T. Segues, B. Coll-Crespo, R. Perez-Bernalte, A. Rabassa, M. Gomila, et al. High-density lipoprotein concentrations relate to the clinical course of HIV viral load in patients undergoing antiretroviral therapy. *AIDS* 2003;17 (8): 1173-8.
- [368] K. Petoumenos, S.W. Worm, E. Fontas, R. Weber, S. De Wit, M. Bruyand, et al. Predicting the short-term risk of diabetes in HIV-positive patients: the Data Collection on Adverse Events of Anti-HIV Drugs (D:A:D) study. *J Int AIDS Soc* 2012;15 (2): 17426.
- [369] A.D. Gutierrez, A. Balasubramanyam. Dysregulation of glucose metabolism in HIV patients: epidemiology, mechanisms, and management. *Endocrine* 2012;41 (1): 1-10.
- [370] V. Arama, C. Tilscan, A. Streinu-Cercel, D. Ion, R. Mihailescu, D. Munteanu, et al. Insulin resistance and adipokines serum levels in a caucasian cohort of hiv-positive patients undergoing antiretroviral therapy: a cross sectional study. *BMC Endocr Disord* 2013;13: 4.
- [371] N. Friis-Moller, C.A. Sabin, R. Weber, A. d'Arminio Monforte, W.M. El-Sadr, P. Reiss, et al. Combination antiretroviral therapy and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med* 2003;349 (21): 1993-2003.
- [372] J. Justman, L. Benning, A. Danoff, H. Minkoff, A. Levine, R. Greenblatt, et al. Protease inhibitor use and the incidence of diabetes mellitus in a large cohort of HIV-infected women. *J Acq Immun Def Synd* 2003;32 (3): 298-303.
- [373] Polsky S, Floris-Moore M, Schoenbaum EE, Klein RS, Arnsten JH, and Howard AA. Incident Hyperglycaemia among older adults with or at-risk for HIV Infection. *Antivir Ther* 2011;16(2): 181-8.
- [374] H. Assallum, M. Alkayem, N. Shabarek. HIV infection and acute stroke: a case report and a review of the literature. *Case Rep Med* 2013;2013: 892054.
- [375] M.d.C.B.d.A. Falcão, J.C. Zírpoli, V.M.d. Albuquerque, B. Markman Filho, N.A.M.d. Araújo, C.A. Falcão, et al. Associação dos biomarcadores com aterosclerose e risco para doença coronariana em portadores de HIV. *Arq Bras Cardiol* 2012;99: 971-8.
- [376] M. Desvarieux, F. Boccara, J.L. Meynard, J.P. Bastard, Z. Mallat, B. Charbit, et al. Infection duration and inflammatory imbalance are associated with atherosclerotic risk in HIV-infected never-smokers independent of antiretroviral therapy. *AIDS* 2013;27 (16): 2603-14.
- [377] J.G. Feldman, P. Goldwasser, S. Holman, J. DeHovitz, H. Minkoff. C-reactive protein is an independent predictor of mortality in women with HIV-1 infection. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2003;32 (2): 210-4.
- [378] M. Masia, E. Bernal, S. Padilla, M.L. Graells, I. Jarrin, M.V. Almenar, et al. The role of C-reactive protein as a marker for cardiovascular risk associated with antiretroviral therapy in HIV-infected patients. *Atherosclerosis* 2007;195 (1): 167-71.
- [379] M.M. Guimaraes, D.B. Greco, S.M. Figueiredo, R.B. Foscolo, A.R. Oliveira, Jr., L.J. Machado. High-sensitivity C-reactive protein levels in HIV-infected patients treated or not with antiretroviral drugs and their correlation with factors related to cardiovascular risk and HIV infection. *Atherosclerosis* 2008;201 (2): 434-9.
- [380] S.E. Dolan, C. Hadigan, K.M. Killilea, M.P. Sullivan, L. Hemphill, R.S. Lees, et al. Increased cardiovascular disease risk indices in HIV-infected women. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005;39 (1): 44-54.
- [381] V.A. Triant, J.B. Meigs, S.K. Grinspoon. Association of C-reactive protein and HIV infection with acute myocardial infarction. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2009;51 (3): 268-73.
- [382] A. De Luca, K. de Gaetano Donati, M. Colafigli, A. Cozzi-Lepri, A. De Curtis, A. Gori, et al. The association of high-sensitivity c-reactive protein and other biomarkers with cardiovascular disease in patients treated for HIV: a nested case-control study. *BMC Infect Dis* 2013;13: 414.
- [383] S.W. Worm, P. Hsue. Role of biomarkers in predicting CVD risk in the setting of HIV infection? *Curr Opin HIV AIDS* 2010;5 (6): 467-72.
- [384] M.K. Baum, G. Shor-Posner. Nutritional requirements in HIV-1 infection. *AIDS* 1994;8 (5): 715.

- [385] J. Djinhi, G. Tiahou, G. Zirihi, E. Lohoues, A. Monde, C. Camara, et al. Selenium deficiency and oxidative stress in asymptomatic HIV1-infected patients in Cote d'Ivoire. *Bull Soc Pathol Exot* 2009;102 (1): 11-3.
- [386] P.S. Ogunro, T.O. Ogungbamigbe, P.O. Elemie, B.E. Egbewale, T.A. Adewole. Plasma selenium concentration and glutathione peroxidase activity in HIV-1/AIDS infected patients: a correlation with the disease progression. *Niger Postgrad Med J* 2006;13 (1): 1-5.
- [387] E.C. Okwara, S.C. Meludu, J.E. Okwara, O.O. Enwere, K.C. Diwe, U.K. Amah, et al. Selenium, zinc and magnesium status of HIV positive adults presenting at a university teaching hospital in Orlu-Eastern Nigeria. *Niger J Med* 2012;21 (2): 165-8.
- [388] C. Castillo, J. Hernandez, I. Valverde, V. Pereira, J. Sotillo, M.L. Alonso, et al. Plasma malonaldehyde (MDA) and total antioxidant status (TAS) during lactation in dairy cows. *Res Vet Sci* 2006;80 (2): 133-9.
- [389] D.A. Al-Qahtani, M.L. Imtiaz, O.S. Saad, N.M. Hussein. A Comparison of the Prevalence of Metabolic Syndrome in Saudi Adult Females Using Two Definitions. *Metab Syndr Relat Disord* 2006;4 (3): 204-14.
- [390] S. Moebus, J. Hanisch, P. Aidsburger, P. Bramlage, J. Wasem, K.-H. Jockel. Impact of 4 different definitions used for the assessment of the prevalence of the Metabolic Syndrome in primary healthcare: The German Metabolic and Cardiovascular Risk Project (GEMCAS). *Cardiovasc Diabetol* 2007;6 (1): 22.
- [391] R. Villegas, Y.B. Xiang, G. Yang, Q. Cai, S. Fazio, M.F. Linton, et al. Prevalence and determinants of metabolic syndrome according to three definitions in middle-aged Chinese men. *Metab Syndr Relat Disord* 2009;7 (1): 37-45.
- [392] A. Bener, M.T. Yousafzai, S. Darwish, A.O.A.A. Al-Hamaq, E.A. Nasralla, M. Abdul-Ghani. Obesity index that better predict metabolic syndrome: body mass index, waist circumference, waist hip ratio, or waist height ratio. *J Obes* 2013;2013: 9.
- [393] G. Mora García, G. Salgado Madrid, M. Ruíz Díaz, E. Ramos Clason, Á. Alario Bello, Á. Fortich, et al. Concordancia entre cinco definiciones de síndrome metabólico. Cartagena, Colombia. *Rev Esp Salud Publica* 2012;86: 301-11.
- [394] H. Liang, X. Chen, Q. Chen, Y. Wang, X. Wu, Y. Li, et al. The metabolic syndrome among postmenopausal women in rural Canton: prevalence, associated factors, and the optimal obesity and atherogenic indices. *PLoS One* 2013;8 (9): e74121.
- [395] L.G. Lauda, A.B. Mariath, L.P. Grillo. Síndrome metabólica e seus componentes em portadores do HIV. *Rev Assoc Med Bras* 2011;57: 182-6.
- [396] D. Fernandez-Berges, F.J. Felix-Redondo, L. Lozano, J.F. Perez-Castan, H. Sanz, A. Cabrera De Leon, et al. Prevalence of metabolic syndrome estimated with the new World Health Organization recommendations. The HERMEX study. *Gac Sanit* 2011;25 (6): 519-24.
- [397] C. Lassale, P. Galan, C. Julia, L. Fezeu, S. Hercberg, E. Kesse-Guyot. Association between adherence to nutritional guidelines, the metabolic syndrome and adiposity markers in a French adult general population. *PLoS One* 2013;8 (10): e76349.
- [398] A. Onat, M. Yuksel, B. Koroglu, H.A. Gumrukcuoglu, M. Aydin, H.A. Cakmak, et al. Turkish adult risk factor study survey 2012: overall and coronary mortality and trends in the prevalence of metabolic syndrome. *Turk Kardiyol Dern Ars* 2013;41 (5): 373-8.
- [399] J. Aneja, D. Basu, S.K. Mattoo, K.K. Kohli. Metabolic syndrome in alcohol-dependent men: a cross-sectional study. *Indian J Psychol Med* 2013;35 (2): 190-6.
- [400] S. Martin Lde, E. Pasquier, N. Roudaut, O. Vandhuick, S. Vallet, V. Bellein, et al. Metabolic syndrome: a major risk factor for atherosclerosis in HIV-infected patients (SHIVA study). *Presse Med* 2008;37 (4 Pt 1): 579-84.
- [401] B.R. Hansen, J. Petersen, S.B. Haugaard, S. Madsbad, N. Obel, Y. Suzuki, et al. The prevalence of metabolic syndrome in Danish patients with HIV infection: the effect of antiretroviral therapy. *HIV Med* 2009;10 (6): 378-87.

- [402] K. Mondy, E.T. Overton, J. Grubb, S. Tong, W. Seyfried, W. Powderly, et al. Metabolic syndrome in HIV-infected patients from an urban, midwestern US outpatient population. *Clin Infect Dis* 2007;44 (5): 726-34.
- [403] H. Wand, A. Calmy, D.L. Carey, K. Samaras, A. Carr, M.G. Law, et al. Metabolic syndrome, cardiovascular disease and type 2 diabetes mellitus after initiation of antiretroviral therapy in HIV infection. *AIDS* 2007;21 (18): 2445-53.
- [404] S. Krishnan, J.T. Schouten, B. Atkinson, T. Brown, D. Wohl, G.A. McComsey, et al. Metabolic syndrome before and after initiation of antiretroviral therapy in treatment-naïve HIV-infected individuals. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2012;61 (3): 381-9.
- [405] A. Carr. HIV protease inhibitor-related lipodystrophy syndrome. *Clin Infect Dis* 2000;30 Suppl 2: S135-42.
- [406] P.S. de Araujo, R.A. de Alencar Ximenes, C.F. Lopes, J.Y. Duarte, M.M. da Silva, E.M. Carneiro. Antiretroviral treatment for HIV infection/AIDS and the risk of developing hyperglycemia and hyperlipidemia. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2007;49 (2): 73-8.
- [407] S. Bajaj, S.K. Tyagi, A. Bhargava. Metabolic syndrome in human immunodeficiency virus positive patients. *Indian J Endocrinol Metab* 2013;17 (1): 117-20.
- [408] J.Y. Oh, K. Greene, H. He, S. Schafer, K. Hedberg. Population-based study of risk factors for coronary heart disease among HIV-infected persons. *Open AIDS J* 2012;6: 177-80.
- [409] M.E. Sobieszczyk, D.R. Hoover, K. Anastos, K. Mulligan, T. Tan, Q. Shi, et al. Prevalence and predictors of metabolic syndrome among HIV-infected and HIV-uninfected women in the Women's Interagency HIV Study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2008;48 (3): 272-80.
- [410] C. Alvarez, R. Salazar, J. Galindez, F. Rangel, M.L. Castaada, G. Lopardo, et al. Metabolic syndrome in HIV-infected patients receiving antiretroviral therapy in Latin America. *Braz J Infect Dis* 2010;14 (3): 256-63.
- [411] S. Bhargava, A. Ali, A. Manocha, M. Kankra, S. Das, L.M. Srivastava. Homocysteine in occlusive vascular disease: a risk marker or risk factor. *Indian J Biochem Biophys* 2012;49 (6): 414-20.
- [412] N.P. Mahalle, M.K. Garg, M.V. Kulkarni, S.S. Naik. Differences in traditional and non-traditional risk factors with special reference to nutritional factors in patients with coronary artery disease with or without diabetes mellitus. *Indian J Endocrinol Metab* 2013;17 (5): 844-50.
- [413] H. Basavanagowdappa, M.S. Babu, S. Karuturi. HIV infection and thromboembolism. *J Assoc Physicians India* 2011;59: 380-2.
- [414] S.M. Graham, R. Mwilu, W.C. Liles. Clinical utility of biomarkers of endothelial activation and coagulation for prognosis in HIV infection: a systematic review. *Virulence* 2013;4 (6): 564-71.
- [415] F. Raiszadeh, D.R. Hoover, I. Lee, Q.H. Shi, K. Anastos, W. Gao, et al. Plasma Homocysteine Is Not Associated With HIV Serostatus or Antiretroviral Therapy in Women. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2009;51 (2): 175-8.
- [416] E. Bernasconi, M. Uhr, L. Magenta, A. Ranno, A. Telenti. Homocysteinaemia in HIV-infected patients treated with highly active antiretroviral therapy. *AIDS* 2001;15 (8): 1081-2.
- [417] M. Bongiovanni, M. Casana, M. Pisacreta, F. Tordato, P. Cicconi, U. Russo, et al. Predictive factors of hyperhomocysteinemia in HIV-positive patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007;44 (1): 117-9.
- [418] G. Guaraldi, P. Ventura, E. Garlassi, G. Orlando, N. Squillace, G. Nardini, et al. Hyperhomocysteinaemia in HIV-infected patients: determinants of variability and correlations with predictors of cardiovascular disease. *HIV Med* 2009;10 (1): 28-34.
- [419] B. Roca, M. Bennasar, J.A. Ferrero, M.C. del Monte, E. Resino. Hepatitis C virus co-infection and sexual risk behaviour are associated with a high homocysteine serum level in HIV-infected patients. *Swiss Med Wkly* 2012;141: w13323.
- [420] P. Barreiro, J.A. Castilla, P. Labarga, V. Soriano. Is natural conception a valid option for HIV-serodiscordant couples? *Hum Reprod* 2007;22 (9): 2353-8.



- [421] D.L. DiGiusto, R. Stan, A. Krishnan, H. Li, J.J. Rossi, J.A. Zaia. Development of hematopoietic stem cell based gene therapy for HIV-1 infection: considerations for proof of concept studies and translation to standard medical practice. *Viruses* 2013;5 (11): 2898-919.
- [422] L. Shan, R.F. Siliciano. From reactivation of latent HIV-1 to elimination of the latent reservoir: the presence of multiple barriers to viral eradication. *Bioessays* 2013;35 (6): 544-52.
- [423] A.H. Borges, M.J. Silverberg, D. Wentworth, A.E. Grulich, G. Fatkenheuer, R. Mitsuyasu, et al. Predicting risk of cancer during HIV infection: the role of inflammatory and coagulation biomarkers. *AIDS* 2013;27 (9): 1433-41.
- [424] P. Dejkharnon, K. Unachak, L. Aupibul, V. Sirisanthana. Insulin resistance and lipid Profiles in HIV-infected Thai children receiving lopinavir/ritonavir-based highly active antiretroviral therapy. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2013: 1-10.
- [425] J.S. Currier, D.V. Havlir. Complications of HIV disease and antiretroviral therapy. *Top HIV Med* 2005;13 (1): 16-23.

# Anexos

## **Infeção por VIH: HISTÓRIA, EVOLUÇÃO E TRATAMENTO**

Mary Duro, MS, Especialista em Análises Clínicas<sup>1,2,4,8</sup>

Cristina Almeida, PhD, Professora Associada<sup>2</sup>

Irene Rebelo, PhD, Professora Associada com Agregação<sup>1,4</sup>

Sarmiento-Castro R, PhD, Diretor de Infeciologia da Unidade Joaquim Urbano/CHP<sup>3,5</sup>

Medeiros R, PhD, Serviço de Virologia do IPO, Porto<sup>2,6,7</sup>

1. Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto, Porto
2. Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto
3. Hospital de Joaquim Urbano, Porto
4. Instituto de Biologia Molecular e Celular (IBMC), Porto
5. Universidade do Minho, Braga
6. Instituto Português de Oncologia, Porto
7. Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Porto
8. Laboratório de Análises Clínicas Vale do Sousa, Penafiel

### **Autor responsável pela correspondência:**

Cristina Maria Nunes Vieira de Almeida

### **Morada:**

Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Fernando Pessoa  
Rua Carlos da Maia, 296  
4200-150 Porto Portugal

### **E-mail:**

calmeida@ufp.edu.pt

### **Contacto telefónico:**

00351919117921

## **Infeção por VIH: HISTÓRIA, EVOLUÇÃO E TRATAMENTO**

### **Resumo**

A “Era da Sida” começou oficialmente a 5 de Junho de 1981, num contexto clínico que sugeria uma súbita e abrupta queda na normal condição imunológica. Inicialmente atingiu homens jovens, homossexuais, mas, posteriormente, também imigrantes haitianos nos EUA, hemofílicos, recetores de transfusões sanguíneas e outros indivíduos heterossexuais. Os idosos, pela descoberta de fármacos que prolongam a sua atividade sexual, constituem hoje um novo grupo de infetados. A verdadeira causa deste quadro clínico permaneceu desconhecida até 1983 quando foi isolado, nestes pacientes, um retrovírus T-linfotrófico. Hoje a doença designa-se infeção por Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH), sendo a SIDA a fase final da infeção, que se caracteriza pelo aparecimento de infeções e/ou tumores oportunistas e certos transtornos neurológicos, indicativos de défice de imunidade celular.

O VIH/SIDA está concentrado nos países em vias de desenvolvimento, sobretudo nos países mais pobres com menos possibilidades de suportarem os cuidados médicos das pessoas infetadas. Nos países industrializados, o controlo desta infeção tem progressivamente melhorado devido ao aparecimento de terapêuticas em coformulações, às diversas alternativas farmacológicas e à debelação de muitos dos efeitos indesejáveis associados ao tratamento, tudo isto resultando num aumento da adesão e eficácia da terapêutica. O início do tratamento desta patologia, após diagnóstico, tem suscitado controvérsia, sendo defendido, por uns, ser o mais tarde possível pela sua toxicidade e, mais recentemente com o aparecimento de novos fármacos, o mais cedo possível para evitar a instalação e perpetuação do vírus no hospedeiro. Estão descritos casos de “cura” mas o objetivo de encontrar uma vacina eficaz continua por atingir, contribuindo para esta falha a capacidade de mutação do vírus, a inexistência de um modelo animal imunológico adequado e os problemas éticos que se levantam associados a estes ensaios. Resta à população adotar a primeira e eficaz arma no combate a esta infeção: a prevenção.

**Palavras-chave:** VIH/SIDA, história, evolução, tratamento

#### **IV Infection: HISTORY, EVOLUTION AND TREATMENT**

##### **Abstract**

The "Age of AIDS" began officially in June 5, 1981, in a clinical context describing a sudden and abrupt drop in the normal immunological condition. Initially it affected mostly young men, homosexuals, but later also Haitian immigrants in the U.S., hemophiliacs, recipients of blood transfusions and other heterosexual people. Because of the discovery of drugs that prolong sexual activity, the elderly are emerging as the new group of infected. The real cause of the AIDS clinical picture remained unknown until 1983 when it was isolated in infected patients the T-lymphotropic retrovirus. Today the disease is referred to Human Immunodeficiency Virus (HIV) infection and the designation AIDS is reserved only to the final stage of infection characterized by the appearance of opportunistic infections and/or tumors and certain neurological disorders indicative of cellular immunity deficit.

Nowadays HIV/AIDS occurs predominantly in developing countries, especially in the poorest countries least able to take care of infected individuals. In first world countries, the control of this infection is becoming increasingly easier due to the emergence of therapies in coformulations, various pharmacological alternatives and the capability to overcome many undesirable effects associated with the treatment. The time to start the treatment has sparked controversy however, being defended, by some, that it should be as late as possible in order to minimize toxicity, and more recently with the emergence of new drugs as early as possible to avoid the perpetuation of the virus in the host. There are reports of "cures" but the goal of finding an effective vaccine continues to out of reach, contributing to this failure the ability of mutation of the virus, the lack of a suitable immunological animal model and the ethical problems that arise. It remains to the population to use the more effective weapon in fighting this infection: prevention.

**Keywords:** HIV/AIDS, history of HIV, evolution, treatment

A “Era da Sida” começou oficialmente a 5 de Junho de 1981 quando os *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) dos Estados Unidos publicaram um artigo onde descreveram cinco casos de pneumonia por *Pneumocystis carinii* (hoje classificado como *Pneumocystis jiroveci*), em Los Angeles, em contextos clínicos que sugeriam uma súbita e abrupta queda na normal condição imunológica. Todos os casos referiam-se a homens jovens (29-33anos), homossexuais, sexualmente ativos e com atuais, ou prévias, infeções pelo vírus citomegálico (CMV) e por *Cândida* sp. Estes homens não se conheciam nem tinham parceiros sexuais em comum, contudo apresentavam uma idêntica história de vida [3,4]. Desde esse dia, muitos relatos se sucederam de casos clínicos semelhantes, referentes também a homens homossexuais, mas aos quais se associavam, agora, outras doenças crónicas e neoplasias, como a linfadenopatia persistente generalizada [5], o sarcoma de Kaposi [6] e o linfoma não Hodgkin [7]. As análises feitas a estes doentes revelaram uma depleção acentuada no número de linfócitos T CD4<sup>+</sup> (“maestros” supremos da imunidade mediada por células) [8], em contraste com a imunidade humoral, fagocitose e níveis de complemento que permaneciam aparentemente intactas [3,4,9]. O comprometimento na imunidade celular resultava numa suscetibilidade aumentada a infeções por vírus e bactérias intracelulares, tumores e rejeição de aloenxertos [10]. A nova doença encaixava num perfil caracterizado por uma profunda imunossupressão, com infeções oportunistas associadas a tumores malignos [11].

Apesar de se conhecer tanto a pneumonia por *Pneumocystis carinii*, como as outras patologias, a aparição conjunta, em vários pacientes, ainda jovens e anteriormente saudáveis, ou seja, sem história clínica sustentada de imunodeficiência, despertava a atenção e a necessidade de estudo por parte dos médicos e da restante comunidade médico-científica, deixando cada vez mais dúvidas e perguntas por responder [12]. Como se identificou este quadro patológico, numa primeira fase, na população homossexual, o termo *Gay Related Immunodeficiency Disease* (GRID) ou *Gay Compromise Syndrome* foi originalmente proposto [6,13]. A imprensa começou por designá-la de “Gay Plage” e “Gay Cancer” até ao dia em que imigrantes haitianos nos EUA [14], hemofílicos [15], recetores de transfusões sanguíneas [16] e outros homens e mulheres heterossexuais [17-19] se revelaram também como vítimas desta imunodeficiência.

A nova doença foi batizada oficialmente em Setembro de 1982 com a designação de SIDA - Síndrome da Imunodeficiência Adquirida [20]. Foram também definidos os requisitos clínicos necessários para ser caracterizada como tal, os quais incluíam a presença de doença indicativa, ou moderadamente indicativa, de depleção da imunidade mediada por células em pessoas que não tivessem outra causa subjacente ou condição que propiciasse a instalação da doença, como por exemplo o Sarcoma de Kaposi, a pneumonia por *Pneumocystis carinii* ou outra importante infecção oportunista [21-23].

Enquanto se teorizava quanto à origem da SIDA e se centravam as atenções nos chamados “grupos de risco”, a epidemia espalhava-se silenciosa e transversalmente por todas as áreas geográficas e grupos sociais da população, principalmente entre os heterossexuais, tendo já entre as suas vítimas, muitos bebés filhos de mães portadoras desta infecção [24-26]. Em 1994, a SIDA constituía a principal causa de morte nos EUA entre a população masculina com idades desde os 25 aos 44 anos [27]. A verdadeira causa permaneceu desconhecida até 1983 quando foi isolado, em pacientes com SIDA, um retrovírus T-linfotrófico [1,2], pelos cientistas Luc Montagnier, em França, e Robert Gallo, nos EUA.

Hoje a doença designa-se infecção por Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH) sendo a SIDA, segundo a revisão de 1993, a fase final da infecção, caracterizando-se pelo aparecimento de infecções e/ou tumores oportunistas e certos transtornos neurológicos, indicativos de défice de imunidade celular, sem outras causas que não a infecção pelo VIH. Este momento da infecção corresponde ao desaparecimento da resposta imune, o que significa que houve uma destruição por completo da arquitetura funcional dos gânglios linfáticos. Corresponde a uma marcada depleção dos linfócitos T CD4<sup>+</sup> e a um incremento na atividade replicativa do vírus [28].

Os atuais critérios de definição da fase SIDA (segundo os CDC), correspondem ao aparecimento e permanência de determinadas infecções (por fungos, bactérias e vírus), ou outras condições, que são descritas na tabela 1.

Tabela 1

O VIH pertence à família *Retroviridae*, género *Lentivirus*, e inclui um grande número de estirpes diferentes de vírus ARN (ácido ribonucleico) definidos por um denominador comum que tem em consideração a estrutura, a composição e as propriedades replicativas. Os lentivírus produzem infeções lentas e irreversíveis que atingem o sistema imunitário e também o sistema nervoso central (SNC) [29,30].

A teoria mais consensual quanto à origem deste vírus assenta em fenómenos de recombinação e evolução do vírus da imunodeficiência dos símios (VIS), que tiveram lugar após a sua transmissão ao homem, surgindo, assim, o VIH. Os VIS são vírus distribuídos por várias espécies de macacos e chimpanzés, com localização geográfica preferencial no continente Africano onde se acredita ter tido a sua origem. O VIH-1 terá resultante do VIScpz (Vírus da Imunidade dos Símios) dos chimpanzés da subespécie *Pan troglodytes* e o VIH-2 dos VISsm/mac dos macacos do género *Macaca spp* e da espécie *Cercocebus atys* [31,32]. A infeção será, então, uma zoonose que se difundiu e se transformou numa pandemia, em meados do século XX, devido às migrações massivas (principalmente dos meios rurais para as cidades), à coabitação e à liberalização sexual [31,32].

O VIH-1 tornou-se a principal causa de infeção por VIH, estando distribuído por todo o mundo. O VIH-2, endémico na África Ocidental, onde foi identificado, caracteriza-se por ser menos patogénico, não tendo uma distribuição tão global devido à sua menor transmissibilidade [33]. Portugal, devido à sua associação histórica com Guiné Bissau, tem nos infetados uma grande prevalência de infeções por VIH-2 que é, como já se referiu, menos agressivo e raramente exige tratamento.

Em termos filogenéticos distinguem-se três grandes grupos no VIH-1, o M, N e O. O grupo M é o mais disseminado em todo o mundo e possui ainda nove subtipos. O VIH-2 possui sete subtipos classificados de A a G, sendo o grupo A o mais prevalente [29,33-35].

O VIH é dotado de uma complexa organização estrutural e genómica que lhe permite aderir à célula alvo, fundir-se com sua membrana, integrar o seu material genético, efetuar a transcrição reversa do seu ARN e replicar utilizando e manipulando a seu favor a estrutura reprodutiva da célula hospedeira [29,36,37].



A elevada taxa de replicação (cerca de 100 milhões de viriões formados por dia) e de mutação, que facilitam a progressão do seu genoma dentro das células do hospedeiro, e o seu especial tropismo pelas células que regulam o sistema imune (SI), fazem com que as patologias associadas à sua presença tenham uma evolução compatível com uma progressiva deterioração imunológica (caracterizada pela instalação de tumores e infeções oportunistas cada vez mais graves e incapacitantes), e com que os antirretrovíricos (ARV) percam rapidamente a sua eficácia [29,30,36,38-40]. Após a entrada do vírus, a tentativa do SI para travar a infeção inicia-se de imediato e envolve todos os mecanismos biológicos de reconhecimento e todas as linhas de defesa celular e humoral. Tem uma evolução natural de até dez anos, período de tempo médio para o colapso estrutural e funcional do SI, como consequência da própria resposta defensiva do hospedeiro face ao vírus [40-43].

A patogénese da infeção pelo VIH depende da conjugação de vários fatores, entre os quais, do tipo de vírus (1,2 subtipos O, M,...), da sua capacidade de mutação e resistência aos ARV e, por último, da imunidade do hospedeiro. Começa com uma infeção primária, caracterizada pelo Síndrome Vírico Agudo (SVA) e passa para a disseminação do vírus pelos órgãos linfáticos com aparecimento de Linfadenopatia Generalizada Persistente (LGP). Após esta fase, instala-se um período de latência clínica ou infeção crónica assintomática. Com o aumento da expressão VIH há uma queda abrupta dos linfócitos T CD4+ e aparecimento da doença. A fase mais avançada da doença, e que precede a SIDA, é o chamado Complexo Relacionado com a SIDA (CRS ou "*Aids-Related Complex*"- ARC). A morte acontece, nos casos não tratados, cerca de dois anos após o início dos sintomas [44]. Contudo, certas condições poderão tornar o hospedeiro resistente, "não progressor" ou "progressor lento" da infeção ou, pelo contrário, fazer com que o declínio do SI e a chegada à fase final de SIDA aconteça mais rapidamente que o normal. O conceito existente de fenótipo "não progressor" baseia-se primariamente no valor da carga vírica (CV) definindo-se "controlador de elite" o infetado por VIH-1 com CV inferior a 50 cópias de ARN/ml e o "controlador virémico" aquele que apresenta uma CV entre 50 e 200 cópias de ARN/ml, na ausência de terapêutica ARV [45].

As manifestações da infecção pelo VIH dependem da imunidade do hospedeiro, a qual é avaliada pelo número de linfócitos T CD4<sup>+</sup>, havendo uma relação conhecida entre o número destas células e o tipo de infecção oportunista manifestada. Por exemplo, as infecções que potencialmente aparecem em primeiro lugar são as provocadas pelo vírus herpes simplex porque estão associadas usualmente a concentrações de linfócitos T CD4<sup>+</sup> entre 300-400 células/μL, seguidas pelas infecções pelo vírus herpes zoster, para valores de linfócitos T CD4<sup>+</sup> inferiores a 300 células/μL. A maioria das infecções oportunistas aparece, contudo, quando os valores de linfócitos T CD4<sup>+</sup> são inferiores a 200 células/μL.

Entre os critérios até hoje aceites como indicativos de início da terapêutica estão o aparecimento de uma infecção ou o número de linfócitos T CD4<sup>+</sup> ser inferior a 200 células/μL. A estratégia terapêutica passa, então, pela profilaxia destas infecções oportunistas [46,47], de modo a preservar o SI e a condição física do hospedeiro, e pelo uso de fármacos ARV, em potentes associações. Atualmente estes fármacos são administrados em coformulações, para potenciar a adesão à terapêutica, e atuam nas fases fulcrais da replicação vírica (adesão, fusão, retrotranscrição e/ou integração) [48,49]. A retrotranscriptase foi o primeiro alvo de experimentação de potenciais ARV, tendo aparecido dois grandes grupos de fármacos: Os Inibidores Nucleosídicos da Transcriptase Reversa (INTR), onde pertence o AZT (primeiro fármaco, aprovado em 1986), a Didanosina (introduzida no mercado em 1992) e, nos anos seguintes, a Zalcitabina, a Entricitabina, a Estavudina, a Lamivudina, a Abacavir e o Tenofovir; e os Inibidores Não Nucleosídeos da Transcriptase Reversa (INNTR) (que apareceram em 1996) que incluem a Nevirapina, a Delavirdina, a Etravirina, a Rilpivirine e a Efavirenze [50].

O aparecimento do grupo de fármacos Inibidores da Protease (IP), os quais incluem o Saquinavir (aprovado em 1995), a Nelfinavir, o Fosamprenavir, o Indinavir, o Ritonavir, a Darunavir, a Tipranavir e a Atazanavir, constituiu um ponto de viragem na história habitual da infecção e é ainda hoje uma importante arma de toda a terapia antiretroviral altamente ativa (HAART) [54,55].

Os inibidores da fusão, outro grupo de ARV, bloqueiam por sua vez a interação da glicoproteína 120 (gp 120) com o CD4; a interação da gp 120 com os coreceptores e as interações com a

glicoproteína 41 (gp 41). O Fuseon, ou comercialmente “Enfuvirtide”, foi o primeiro a ser aprovado (em 2002) e impede a adesão do vírus ao receptor CD4.

O Raltegravir (RAL) e o Elvitegravir (EVG) constituem uma nova classe de drogas, conhecida como inibidoras da integrase do VIH, e foi aprovada pela FDA (Food and Drug Administration) em outubro de 2007. Estes bloqueiam a atividade da enzima integrase, responsável pela inserção do ADN do VIH no ADN humano [51].

Esta atitude concertada (profilaxia das infeções oportunistas e ataque ao vírus em todas as suas funções) veio permitir a preservação do SI e a diminuição da replicação vírica, o que alterou o curso, até aí habitual, da infeção, resultando no final numa maior qualidade e longevidade dos infetados [54,55].

Atualmente novos fármacos estão a ser desenvolvidos com o objetivo de diminuir as complicações metabólicas e incrementar a eficácia. Promissores candidatos a drogas anti-VIH, explorando novos alvos do ciclo replicativo do vírus, estão em fase de ensaios clínicos e pré-clínicos. O Tenofovir alafenamida (TAF), pertencente ao grupo dos INTR da nova geração, previamente designado por GS-7340, foi apresentado recentemente (Março de 2013) na “*Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections*” (CROI), em Atlanta. Trata-se de uma pró-droga do Tenofovir. Contudo, o TAF atinge maiores concentrações intracelulares e menores concentrações plasmáticas, o que lhe conferirá potencialmente menor toxicidade renal e óssea. Outro medicamento apresentado na CROI refere-se ao Festinavir (BMS 986001), um fármaco análogo da timidina semelhante à estavudina, mas com menor potencial de toxicidade dado não atingir de forma tão significativa as mitocôndrias [52]. Relativamente aos INTR, foram divulgados, também durante o CROI, os resultados de segurança do MK-1439 em doentes naïve que, entretanto, iniciaram tratamento em monoterapia, durante sete dias, tendo-se comprovado ser bem tolerado, com uma atividade ARV eficaz e sem evidência de resistências emergentes. O Elvitegravir-cobicistat (EVG-COB) recentemente aprovado como parte integrante de uma coformulação, o dolutelgravir (DTG), é outro inibidor da integrase, estando atualmente em estudo clínico de fase III. Tem demonstrado ter atividade em doentes com vírus resistentes

ao RAL e ao EVG. O cenicriviroc (CVC) é um novo agente antagonista dos coreceptores CCR5 e CCR2, apresentado igualmente no mesmo congresso [53].

Como alternativa terapêutica existe ainda a geneterapia [54] e a Interleucina 2 (IL-2), usadas em monoterapia, ou associadas à terapia ARV habitual [55,56].

Enquanto se desenvolvem esforços no sentido de se conseguir outras armas terapêuticas, com eficácia semelhante à geneterapia e à ARV, mas com menores efeitos secundários, a comunidade médica tem-se questionado quanto ao momento adequado para um indivíduo infetado iniciar a terapia, assunto, este, de alguma controvérsia [57,58]. Até ao ano de 2010 desaconselhava-se, em geral, o início precoce da terapêutica dado que, se não houvesse uma adesão à terapêutica de pelo menos 80%, as resistências que se criavam faziam com que rapidamente se esgotassem as alternativas terapêuticas. Os conhecimentos mais recentes demonstraram claramente o benefício do início da terapêutica ARV apenas quando os linfócitos T CD4<sup>+</sup> forem iguais ou inferiores a 350 células/uL atrasando, assim, o início da terapêutica e o aparecimento de resistências a esta. Contudo, e contrariando o anteriormente dito, existem debates centrados na possibilidade de se iniciar a terapêutica mais cedo, isto é, quando os valores de linfócitos T CD4<sup>+</sup> sejam ainda superiores a 500 células/uL, pelo facto de fármacos mais eficazes, e com menos efeitos secundários, poderem ser benéficos ao atacar mais cedo o vírus, não dando, assim, tempo para este se esconder em locais designados por santuários víricos e se perpetuar, deste modo, no hospedeiro [59].

Em relação à possibilidade de uma vacina, já em 1997, o presidente dos EUA, Bill Clinton, desafiou cientistas a encontrar uma “vacina efetiva num prazo de 10 anos”. Desde então, a “National HIV Vaccine Trials Network” tem vindo a desenvolver e testar possíveis substâncias no intuito de erradicar, por vacinação, o vírus da circulação sanguínea [26]. Entre as múltiplas dificuldades com que se confrontam estão a capacidade do vírus se proteger e permanecer latente em reservatórios do hospedeiro [60,61]; a heterogeneidade vírica devido às sucessivas mutações [38]; a dificuldade em encontrar um modelo animal com uma resposta imunológica semelhante à do homem [62] e os problemas éticos que envolvem os ensaios nos vários países [26,63]. Perante estas dificuldades, o controlo efetivo da infeção vírica continua a ser hoje uma

resposta adiada e a completa erradicação e uma vacina efetiva, uma utopia. Apesar deste panorama, casos de cura como o “doente de Berlim” infectado por VIH-1 submetido a um transplante de medula óssea devido a uma leucemia, cujo dador apresentava a anomalia delta 32 nos coreceptores CCR5 e, mais recentemente, o caso de um recém-nascido que iniciou tratamento 31 horas após nascimento até as 18 semanas e nos quais a virémia foi muito baixa ou ausente após suspensão da terapia ARV, levam a acreditar que é possível recuperar desta patologia. O conceito de cura da infecção por VIH engloba os conceitos de “cura esterilizante” em que, em teoria, a totalidade de ADN-VIH latente é eliminada e a “cura funcional” em que a forma latente de VIH persiste, mas a virémia é muito baixa ou ausente após a suspensão da terapêutica ARV [45].

Contrariando estes *flashes* de esperança, dados da ONU revelaram que até 2012 foram contabilizados cerca de 34 milhões infectados pelo VIH, tendo a SIDA causado a morte a mais de 25 milhões de pessoas, cerca de 1,7 milhões só em 2012. Mais de 17,3 milhões são mulheres, ou seja, mais de metade das pessoas infectadas. Destas mulheres, 13,2 milhões vivem em África, ao Sul do Sara [64]. O número cada vez maior de mulheres infectadas vem como consequência da via sexual se ter tornado, desde 1986, a principal via de transmissão da infecção. Numa relação sexual, a mulher tem 4 vezes mais risco de se infectar que o homem, devido à sua maior área de exposição. Dados de 2012 revelaram que os infectados estão localizados maioritariamente na África subsariana e na Ásia. Supõe-se que cerca de 50% não conhecem a sua condição de infectados. Os 2,5 milhões de novos infectados (dados relativos a pessoas infectadas em 2012) aconteceram, sobretudo, em África mas, apesar de tudo, são cerca de 50% menos que em anos anteriores.

Conhecidas que são as bases epidemiológicas e vias de contágio, resta à comunidade adotar a primeira e mais eficaz arma contra esta epidemia: A PREVENÇÃO.

*Referências bibliográficas:*

- [1] Barré-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, et al. Isolation of a T-Lymphotropic Retrovirus from a Patient at Risk for Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS). *Science*, 1983;220:868-871.
- [2] Gallo RC, Salahuddin SZ, Popovic M. Frequent Detection and Isolation of Cytopathic Retroviruses (HTLV-III) from Patients with AIDS and at Risk for AIDS. *Science*, 1984;224:500-503.
- [3] Gottlieb MS, Schanker H., Fan PT, et al. Pneumocystis Pneumonia --- Los Angeles. *MMWR Morbid Mortal Wkly Rep* [Online]. [http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/june\\_5.htm](http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/june_5.htm) [Agosto 5, 2006], 1981;30:1-3.
- [4] Gottlieb MS, Schroff R, Schanker HM, et al. Pneumocystis carinii Pneumonia And Mucosal Candidiasis In Previously Healthy Homosexual Men: Evidence of a New Acquired Cellular Immunodeficiency. *N Engl J Med*, 1981;305:1425-1431.
- [5] Mildvan D, Mathur U, Enlow R, et al. Epidemiologic Notes and Reports Persistent, Generalized Lymphadenopathy among Homosexual Males. . *MMWR Morbid Mortal Wkly Rep* [Online]. Disponível: <http://www.cdc.gov> [Dezembro 31, 2006]. 1982;31:249-251.
- [6] Hymes KB, Greene JB, Marcus A, et al. Kaposi's Sarcoma in Homosexual Men- A Report of Eight Cases. *Lancet*, 1981;2:598-600.
- [7] Ziegler JL WG, Greenspan JS, et al. Difuse, Undifferentiated Non-Hodgkins Lynfoma among Homosexual Males--United States. *MMWR Morbid Mortal Wkly Rep* [Online]. Disponível: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00001104.htm> [Janeiro 04, 2007], 1982;31:277-9.
- [8] Rubial-Ares B, Belmonte L, Baré P, Bayo-Hanza C, Bracco M. Interacciones Del Virus De La Imunodeficiência humana Con Células Del Sistema Inmune. *Imunopatogenia y Transtornos de La regulação Inmune. Imunopatologia molecular: nuevas fronteras de la medicina: um nexo entre la investigación biomedical y la prática clinica (Rabinovich/ M.T. Alvelar), Medica Panamericana, Argentina, 2004:323-329.*
- [9] Masur H, Michelis MA, Greene JB, et al. An Outbreak of Community-Acquired Pneumocystis carinii Pneumonia: Initial Manifestation of Cellular Immune Dysfunction. *N Engl J Med*, 1981;305:1431- 1438.
- [10] Rubial-Ares B, Belmonte L, Baré P, Bayo-Hanza C, Bracco M. Interacciones Del Virus De La Imunodeficiência humana Con Células Del Sistema Inmune. *Imunopatogenia y Transtornos de La regulação Inmune. In. Imunopatologia molecular: nuevas fronteras de la medicina: um nexo entre la investigación biomedical y la prática clinica (Rabinovich/ M.T. Alvelar), Medica Panamericana, Argentina., 2004:323-329.*
- [11] Selik RM, Chu SY, Ward JW. Trends in Infectious Diseases and Cancers among Persons Dying of HIV Infection in the United States from 1987 to 1992 *Ann Intern Med* [Online]. Disponível: <http://www.annals.org> [Dezembro 28, 2006], 1995;123:933-936.
- [12] Waterson AP. Acquired Immune Deficiency Syndrome. *BMJ*, 1983;286:743-746.
- [13] Brennan RO, Durack DT. Gay Compromise Syndrome. *Lancet*, 1981;2:1338-1339.
- [14] Hensley GT, Moskowitz LB, Pitchenik AE, et al. Opportunistic Infections and Kaposi's Sarcoma among Haitians in the United States. *MMWR Morbid Mortal Wkly Rep* [Online]. Disponível: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00001123.htm> [Fevereiro 27, 2007]. 1982;31:353-354, 360-361.
- [15] Poon M-C, Landay A, Alexander J, et al. Update on Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS) among Patients with Hemophilia A. *MMWR Morbid Mortal Wkly Rep*

- [Online] Disponível: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00001202.htm> [Janeiro 4, 2007], 1982;31:644-646,652.
- [16] Ammann A, Cowan M, Wara D, et al. Epidemiologic Notes and Reports Possible Transfusion-Associated Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS) -- California. MMWR Morbid and Mortal Wkly Rep, 1982;31:652-654.
- [17] Task Force on Kaposi's Sarcoma and Opportunistic Infections. Epidemiologic Notes and Reports Update on Kaposi's Sarcoma and Opportunistic Infections in Previously Healthy Persons--United States. . MMWR Morbid and Mortal Wkly Rep [Online]. Disponível: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00001111.htm> [Dezembro 31, 2006]. 1982;31:294, 300-301.
- [18] Harris C, Small B, Friedland G, et al. Epidemiologic Notes and Reports Immunodeficiency among Female Sexual Partners of Males with Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS)--New York. . MMWR Morbid Mortal Wkly Rep [Online]. Disponível: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00001221.htm> [Janeiro 04, 2007]. 1983;31:697-698.
- [19] Wormser G, Duncanson F, Krupp L, et al. Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS) in Prison Inmates--New York, New Jersey. MMWR Morbid Mortal Wkly Rep [Online]. Disponível: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00001223.htm> [Janeiro 04, 2007], 1983;31:700-701.
- [20] Kher U. " July 27, 1982 .A Name for the Plague". Time Magazine.Disponível: <http://www.time.com/time/80days/820727.html> [data da visita: 01/10/ 07], 2003.
- [21] Task Force on Acquired Immune Deficiency Syndrome. CDC. Current Trends Update on Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS). United States MMWR Morbid Mortal Wkly Rep [Online]. Disponível: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00001163.htm> [Dezembro 31, 2006], 1982;31:507-508, 513-514.
- [22] Dowdle WR. The Epidemiology of AIDS. Public Health Reports, 1983;98:308-312.
- [23] Public Health Laboratory Service Communicable Disease Surveillance Centre. Surveillance of the acquired syndrome immune deficiency syndrome in the United Kingdom, January 1982-July 1983. BMJ, 1983;287:407-408.
- [24] O'Reilly R, Kirkpatrick D, Small B, et al. Unexplained Immunodeficiency and Opportunistic infections in Infants -- New York, New Jersey, California. . MMWR Morb Mortal Wkly Rep [Online]. Disponível: <http://www.cdc.gov> [Janeiro 04, 2007], 1982;31:665-666.
- [25] Brunet JB. Federal Ministry of Health and Environmental Protection, Conseil Superior de l'Hygiene Publique, et al. International Notes Update: Acquired Immunodeficiency Syndrome--Europe. MMWR Morbid Mortal Wkly Rep [Online]. Disponível: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00000506.htm> [Janeiro 13, 2007], 1985;34:147-50,155-156.
- [26] Sepkowitz KA. AIDS -The First 20 Years. N Eng J Med, 2001;344:1764-1772.
- [27] National Center for Prevention, National Center for Health Statistics, CDC. Update: Mortality Attributable to HIV Infection Among Persons Aged 25-44 Years - -United States, 1994. MMWR Morbid Mortal Wkly Rep [Online]. Disponível: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00000506.htm> [Janeiro 18, 2007], 1996;45:121-125.
- [28] Mindel A., Tenant-Flowers M. ABC of AIDS Natural history and management of early HIV infection. BMJ, 2001;322:1290-1293.
- [29] Freed EO, Martin MA. HIVs and Their Replication.In: Fields Virology. Fourth Edition. (DM Knipe, PM Howley, DE Griffin, RA Lamb, B Roizman, MA Martin, SE Straus, editors) Lippincott Williams & Wilkins,Philadelphia, 2001:1971-2041.

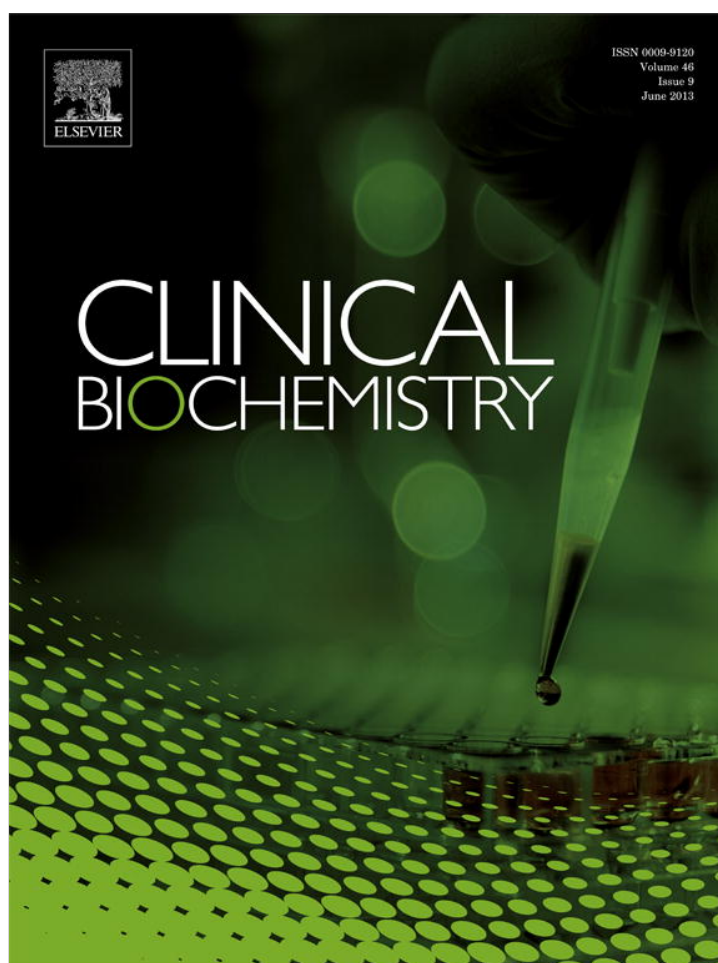
- [30] Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Retroviruses. In: Medical Microbiology. (P.R. Murray, K.S. Rosenthal., M.A. Pfaller, editors) Elsevier Mosby, USA., 2005:657-673.
- [31] Sharp PM, Bailes E, Chaudhuri RR, et al. . The originis of acquired immune deficiency syndrome viruses: where and when? *Phil Trans R Soc Lond B* 2001;356:867-876.
- [32] Hahn BH, Shaw GM, De Cock KM, Sharp PM. AIDS as a Zoonosis: Scientific and Public Health Implications. *Science* 2000;287:607-614.
- [33] Kalish ML, Robbins KE, Pieniazek D, et al. Recombinant Viruses and Early Global HIV-1. *Emerg Infect Dis*, 2004;10:1227-1233.
- [34] Paraskevis D, Lemey P, Salemi M, et al. Analysis of the Evolutionary Relationships of HIV-1 and SIVcpz Sequences Using Bayesian Inference: Implications for the Origin of HIV-1. *Mol Biol Evol*, 2003;20:1986-1996.
- [35] Gomes P, Abecasis A, Almeida M, Camacho R and Mansinho K Transmission of HIV-2. *Lancet Infect Dis*, 2003;3:683-684.
- [36] Streicher H.Z. RMSJ, Gallo R.C. Human Immunodeficiency Viruses. In: Principles and Practice of Infectious Diseases (Mandell, Douglas and Bennett/ G.L. Mandell, J.E. Bennett, R. Dolin, editors), Churchill Livinstone, USA. 2000:1874-1885.
- [37] Freed EO. HIV-1 Replication. *Somat Cell Mol Genet*, 2001;26:13-33.
- [38] Hirsch MS, Conway B, D'Aquila RT, et al. . Antiretroviral Drug Resistance Testing in Adults With HIV Infection. Implications for Clinical Management. *JAMA*, 1998;279:1984-1991.
- [39] Clavel F, Hance AJ. Medical Progress HIV Drug Resistance. *N Engl J Med*, 2004;350:1023-1035.
- [40] Matsuda Z, Hellinger JA, Essex M Human Immunodeficiency Virus and Other Retroviruses. In: Infectious Diseseses (S.L.Gorbach, J.G. Bartlett., N.R.Blacklow, editors) W.B. Saunders Company, United States of America, 1998:2200-2215.
- [41] Guarín MCJ, Fernández MME, López RMT. Reacciones y alteraciones del sistema inmune durante la infección por el VIH-1. *Infection* 2006;10:250-265.
- [42] Imboden JB, Seaman WE. T Lymphocytes & Natural Killer Cells. In: Medical Immunology (T.G. Parslow, D.P.Stites, A.I.Terr, J.B. Imboden/ J.Foltin I. Nogueira, B. Holton, editors) Lange Medical Books/ Mcgraw-Hill Companies, United States of America., 2001:131-147.
- [43] Musey L, Hughes J, Schacker T, et al. . Cytotoxic-T-Cell Responses, Viral Load, and Disease Progression in Early Human Immunodeficiency Type 1 infection. *N Eng J Med*, 1997;337:1267-1274.
- [44] Rutherford GW, Lifson AR, Hessel NA, et al. Course of HIV-I infection in a cohort of homosexual and bisexual men: an 11 year follow-up study. *Br Med J*, 1990;301:1183-1188.
- [45] Deeks, Saag M. How do HIV elite controllers do what they do? *Clin Inf Dis*, 2010;51:239-41.
- [46] Centers for Infectious Diseases.USPHS/ISD.Guidelines for the Prevention of Opportunistic Infections in Persons Infected with Human Immunodeficiency Virus: A Summary. *MMWR Morbid Mortal Wkly Rep*, 1995;44:1-34.
- [47] Moore RD, Chaisson RE. Natural History of Opportunistic Disease in an HIV-Infected Urban Clinical Cohort. *Ann Intern Med* [Online]. Disponivel: <http://www.annals.org/cgi/content/full/124/7/633> [Fevereiro 28, 2007]. 1996;124:633-642.
- [48] De Clerk E. New Anti-HIV Agents and Targets. *Med Res Rev*, 2002;22:531-565.
- [49] Nair V. HIV integrase as a target for antiviral chemotherapy. *Rev Med Virol*, 2002;12:179-193.



- [50] Thompson MA, Aberg JA, Hoy JF, et al. Antiretroviral Treatment of Adult HIV Infection, 2012 Recommendations of the International Antiviral Society–USA Panel. *JAMA*, 2012;308:387-412.
- [51] Brito MA. Fármacos recentes usados para o tratamento da infecção pelo HIV-1: enfuvirtida, maraviroc, raltegravir e etravirina. *Rev Ciênc Farm Básica Apl.*, 2011;32(2):159-168.
- [52] Saag M. New and investigational antirretroviral drugs for HIV infection: mechanism of action and early findings. *Top Antivir Med*, 2012;20:162-7.
- [53] Gathe J, Cade J, DeJesus E, et al. Primary Analysis of Cenicriviroc vs Efavirenz, in Combination with Emtricitabine/Tenofovir, in Treatment-naïve HIV-1+ Adults with CCR5-tropic Virus. 20th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. Atlanta, Week-24, Abstract 106LB, March 3-6, 2013.
- [54] Marathe JG, Wooley DP. Is gene therapy a good therapeutic approach for HIV- positive patients? *Genetic Vaccines and Therapy* [Online] 5:5 Disponível: <http://www.gvt-journal.com/content/5/1/5> [Junho 01, 2007], 2007.
- [55] Youle M, Emery S, Fisher M, et al. A Randomised Trial of Subcutaneous Intermittent Interleukin-2 without Antiviral Therapy in HIV-Infected Patients: The UK-Vanguard Study. *PloS Clin Trials* [Online] 1 (1):e3. Disponível: <http://www.plosclinicaltrials.org> [Junho 01, 2007], 2006.
- [56] Hardy GAD, Imami N, Nelson MR., et al. A phase I, randomized study of combined IL-2 and therapeutic immunisation with antiretroviral therapy. *J Immune Based therapies and Vaccines* [Online] 5:6 Disponível: <http://www.jibtherapies.com7content/5/1/6> [Junho 01, 2007], 2006.
- [57] Hammer SM SMS, Schechter M., et al. Treatment for Adult HIV Infection 2006 Recommendations of the International AIDS Society-USA Panel *JAMA*, 2006;296:827-843.
- [58] Department of Health and Human Services (DHHS) Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. 2007. Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in HIV-1-Infected Adults and Adolescents.
- [59] Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in HIV-1-Infected Adults and Adolescents. Downloaded from <http://aidsinfo.nih.gov/guidelines> on 6/28/2013.
- [60] Pantaleo G, Graziosi C, Butini L, et al. Lymphoid organs function as major reservoirs for human immunodeficiency virus. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991;88:9838-9842.
- [61] Finzi D, Hermankova M,, Pierson T, et al. Identification of a Reservoir for HIV-1 in Patients on Highly Active Antiretroviral Therapy. *Science*, 1997;278:1295-1300.
- [62] Uberla K, Staahl-Hennig C, Boottiger D, et al. Animal model for the therapy of acquired immunodeficiency syndrome with reverse transcriptase inhibitors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995;92:8210-8214.
- [63] Kodish E, Lantos JD, Siegler M. Ethical Considerations in Randomized Controlled Clinical Trials. *Cancer*, 1989;65:2400-2404.
- [64] UNAIDS World AIDS Day Repor. disponível em: <http://www.unaids.org/en/media/unaids/contentassets/documents/epidemiology/2012/gr2012/JC2434> WorldAIDSday\_results\_en.pdf, 2012.

Tabela 1 – Infecções oportunistas e outras condições associadas à infecção por VIH que constituem os atuais critérios de definição da SIDA, segundo os *CDC (1993)*

<b><i>Infecção</i></b>	<b><i>Doença</i></b>
Infeções por protozoários	Toxoplasmose Criptosporidiose com diarreia ultrapassando um mês Isosporíase com diarreia igual ou mais do que um mês
Infeções por fungos	Candidose esofágica, traqueal, brônquica ou pulmonar Pneumonia por <i>Pneumocystis jiroveci</i> Criptococose extrapulmonar Coccidioidomicose extrapulmonar Histoplasmose extrapulmonar
Infeções víricas	CMV com exclusão da doença hepática, esplénica ou ganglionar Herpes simplex mucocutâneo, com ulcerações mais de um mês, ou bronquite, pneumonite ou esofagite Leucoencefalopatia multifocal progressiva
Infeções bacterianas	Infecção por <i>Mycobacterium avium</i> disseminada Infecção por <i>Mycobacterium tuberculosis</i> Pneumonia bacteriana recorrente (mais do que dois episódios em 12 meses) Septicemia por <i>Salmonella</i> (não tífica), recorrente
Neoplasias oportunistas	Sarcoma de Kaposi Linfoma de Burkitt, imunoblástico, primário, do SNC Carcinoma invasivo do colo do útero
Outras condições	Encefalite por VIH (demência) Síndrome de emaciação



This article appeared in a journal published by Elsevier. The attached copy is furnished to the author for internal non-commercial research and education use, including for instruction at the authors institution and sharing with colleagues.

Other uses, including reproduction and distribution, or selling or licensing copies, or posting to personal, institutional or third party websites are prohibited.

In most cases authors are permitted to post their version of the article (e.g. in Word or Tex form) to their personal website or institutional repository. Authors requiring further information regarding Elsevier's archiving and manuscript policies are encouraged to visit:

<http://www.elsevier.com/authorsrights>



## Lipid profile changes by high activity anti-retroviral therapy

M. Duro<sup>a,b,f</sup>, R. Sarmento-Castro<sup>c,d</sup>, C. Almeida<sup>b,\*</sup>, R. Medeiros<sup>b,e</sup>, I. Rebelo<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Faculty of Pharmacy, Oporto University, Oporto, Portugal

<sup>b</sup> Faculty of Health Sciences, Fernando Pessoa University, Oporto, Portugal

<sup>c</sup> Joaquim Urbano Hospital, Oporto, Portugal

<sup>d</sup> Minho University, Braga, Portugal

<sup>e</sup> Portuguese Institute of Oncology, Oporto, Portugal

<sup>f</sup> Vale do Sousa Clinical Analysis Laboratory, Penafiel, Portugal

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 5 July 2012

Received in revised form 13 November 2012

Accepted 21 December 2012

Available online 4 January 2013

#### Keywords:

Lipid profile

Dyslipidaemia

Lipodystrophy

HIV

HAART

PI

NNRTI

NNRTI

### ABSTRACT

**Objective:** Study of the lipid profile in patients infected with HIV treated with different combinations of high activity anti-retroviral therapy (HAART).

**Design and methods:** A retrospective cohort study of the lipid profile in patients undergoing HAART. The study analyzes the evolution of concentrations of triglycerides (TG), total cholesterol (TC), LDL-cholesterol (LDLc) and HDL-cholesterol (HDLc) in a period of at least 3 years of treatment. From a total of 750 clinical cases analyzed in Hospital Joaquim Urbano (Oporto, Portugal) 124 patients were selected for this study.

**Results:** After 3 years of treatment, we observed the development of dyslipidaemia by increases in TG (17%), TC (29%) and LDLc (9%), particularly in patients treated with a combination of drugs which included protease inhibitors (PI). Moreover, the non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTI) were associated with better lipid profile. The increase of 46% in HDLc was the most surprising finding.

**Conclusions:** The results indicate that patients with HAART have a more atherogenic lipidic profile with increased TC, LDLc and TG levels. Since the effectiveness of NNRTI is similar to that of PI, but with a smaller atherogenic profile, it should be the first choice drug to be selected in the HIV treatment.

© 2013 The Canadian Society of Clinical Chemists. Published by Elsevier Inc. All rights reserved.

### Introduction

In recent years, various forms of lipid disorders have been associated with both acute and chronic infection diseases of different aetiologies: bacterial, viral and parasitological [1–3]. HIV infection is not an exception and has been linked to an increase in the levels of triglycerides (TG) and with reduced levels of total cholesterol (TC), HDL-cholesterol (HDLc) and LDL-cholesterol (LDLc) [4–6]. The prognosis and quality of life of HIV patients increased significantly when the triple therapy (HAART: high activity anti-retroviral therapy) became the standard method of treatment. The combination of different classes of potent drugs with synergistic effects, achieved an effective control of viral load, greater preservation and even recovery of the immune system that retards the final stage of infection, AIDS. But at the same time the HAART was associated with morphological and metabolic changes namely facial and limb lipoatrophy, dorsocervical and abdominal lipoaccumulation, insulin resistance, diabetes mellitus, lactic acidosis, bone changes (osteopenia, osteoporosis and osteonecrosis) [7] and a different lipid profile compared to untreated patients. All the existing evidences point towards HAART as being the main cause of the aforementioned changes since they are independent of plasma

viral load HIV infection and its appearance coincided with the introduction of the HAART [8]. After this was realized the physicians were forced to rethink the treatment regimens and make adjustments, individually, to each patient [7,9]. The pathogenesis of lipodystrophy, hitherto unknown, was initially associated with multiple mechanisms of toxicity of anti-retroviral agents. These mechanisms were thought to act synergistically in the development of this syndrome. One explanation took account of the similarity with the Cushing syndrome, characterized by a very similar accumulation of fatty tissue on the dorsocervical (growth of fat pads along the collar bone and on the back of the neck). Subsequent studies have ruled out this hypothesis, which became known as the pseudo-Cushing syndrome, since the cause of the accumulation of fat in HIV positive patients was not the excess of glucocorticoids [10]. Another mechanism could be the accumulation of fat as a result of recovery of appetite after viral replication suppression, but this process does not explain the phenomena of lipoatrophy. The inhibition of differentiation and apoptosis of adipocytes were the first mechanisms proposed to explain the peripheral lipoatrophy [11]. Initially it was thought that dyslipidaemia could ever depend directly from this process. There are many works in the literature presenting a wide range of values for lipodystrophy. Between 3% and 64% was referred by Carr in 1998 [8], Lichtenstein in 2003 [12] and Currier in 2005 [9], values of 20%, 30% to 50% by Behrens in 2006 [13] and 48.7% according to Bogner et al. in 2001 [14]. The very different

\* Corresponding author. Fax: +351 22 507 4637.

E-mail address: [calmeida@ufp.edu.pt](mailto:calmeida@ufp.edu.pt) (C. Almeida).

results published required considering, in their interpretation, other variables in addition to HAART. Factors derived from the infection itself (for example acute phase proteins and cytokines) showed that they can trigger dyslipidaemia or exacerbate pre-existing conditions [15,16]. Genetic predisposition plays also a very important part in these changes [17]. Nowadays, the origin of lipodystrophy is considered a multifactorial process [16,18–20]. The duration of treatment [12], the pharmacological interactions [19], age [21], sex [22], race [14,18,23] and the immune status [16] are all assumed as determinants. The development of dyslipidemia by protease inhibitors (PI) drugs may be explained by the similarities between the binding site of the viral protein – protease – and proteins involved in lipidic metabolism. For example CRABP-1 (cytoplasmatic retinoic acid-binding protein type1) shows in the C-terminal sequence a homology of 58% with the catalytic region of HIV protease. The inhibition of CRABP-1 induces a reduction in the synthesis of 9-cis retinoic, the main activator of retinoid X receptor (RXR), and of the peroxisome proliferator-activated receptor type  $\gamma$  (PPAR- $\gamma$ ) [24]. Thus, inhibition of CRABP-1 results in decreased final differentiation, reduced proliferation and increasing apoptosis of peripheral adipocytes [25]. As a result, there is decrease in the TG deposits and an increase in plasma lipids [11,26]. The protein associated to the LDLc receptor present in endothelial cells and liver-LRP (low-density lipoprotein receptor-related protein) has 63% similarity to the catalytic region of HIV protease. The LPR is the hepatic receptor that promotes the removal of lipoproteins with apoprotein E TG rich, as Qm, VLDL (very low density lipoprotein) and their remnants. Its inhibition promotes a parallel increase in TC and TG, because these will remain in circulation [26]. Moreover tests have proven that HIV negative individuals can have elevated levels of VLDL and normal LPL activity suggesting that even short periods of treatment with PI, particularly with the RTV, causes a direct increase of VLDL [6,7]. VLDL clearance disorders were also reported during HAART therapy which, added to the previous mechanisms, could explain the remarkable increases in VLDL and TG in these treatments [4].

The average incidence of dyslipidaemia described in the literature after HAART, oscillates between 15% and 30%, and hypertriglyceridemia is the most common metabolic effect, followed by increased values of TC, LDLc and low HDLc values. TG values increased around 200% compared to baseline levels [21,27]. Considering the class of PI, the average numbers of dyslipidaemia may raise up to 60%, with increases ranging between 11.9% and 71% for TG and 10% and 47% for TC [15,16,20,21,24,26–35] (Table 1).

The aim of this work was to study the lipid profile (TC, TG, HDLc and LDLc) in HIV patients treated with different combinations of HAART medications for 3 years at the Hospital de Joaquim Urbano (HJU), Oporto, in northern Portugal.

## Methods

### 2.1. Sample selection

Data collection for this study took place between 2006 and 2008, correspondent to analysis conducted between 2001 and 2006, after approval by the Ethical Committee of the Joaquim Urbano Hospital. We analyzed the clinical results of 750 patients diagnosed with HIV between 1998 and 2004 at Hospital de Joaquim Urbano (HJU). Of those, 124 patients (71 study population patients and 53 control population patients) were selected for this study. The study population was chosen to meet the following criteria: HIV-positive, treated with HAART medications for at least 3 years, important number of testing results for lipid profile, viral load (VL) and count of CD4-positive T lymphocyte (CD4<sup>+</sup>), before starting therapy and in subsequent years; and that have undergone no more than two changes during the therapeutic treatment. Of those who were already under therapy, 71 patients were selected for this study (study population). Patients submitted to high number of therapeutic changes or that fail to comply with the therapy scheme were excluded. The study population was divided in two groups: one with previous medication (mono or biotherapy ARV) to HAART and another with patients who had never undergone any anti-retroviral (ARV) drug before HAART (naive population). The control population was randomly selected among individuals of the same average age and consisted of patients with proven HIV without anti-retroviral therapy, followed and monitored at the same hospital in order to ensure uniformity of criteria and analytical methods.

### 2.2. Laboratory methods

Blood tests were performed on a “Cobas Integra 400” automated analyzer. Measurements of lipid parameters were made in serum by enzymatic colorimetric method. The LDLc was estimated using the Friedewald formula ( $LDL-C = TC - HDL-C + TG/5$ ). The quantification of CD4+ T cells was performed in venous blood collected in EDTA, by flow cytometry (Coulter® EPICS® XL-MCL Flow cytometry System) with final determination by fluorimetry. The method of quantification of viral load in plasma was the VERSANT® HIV-1 3.0 (bDNA) test, through the amplification of the signal emitted by the nucleic acid, using the System 340 bDNA analyzer Bayer®. The NCEP III criteria were used to interpret the lipid results [36]. We used the average of all determinations made in 1 year as the annual value. It was assumed that a patient changed its profile (for instance, from normal to borderline) relative to a given parameter, when the same trend was observed in two mean consecutive determinations.

**Table 1**

Literature results about the influence of HAART on triglycerides (TG) and total cholesterol (TC) values.

Author	TG increase (%)	TC increase (%)	Class of therapeutic drugs
P. Domingo et al., 1999 [28]	45.3	36.5	NRTI + PI
H.K. Berthold et al., 1999 [29]	71	24	NRTI + PI
R. Thiébaud et al., 1999 (Aquitaine Cohort) [21]	27	–	NRTI + PI
S. Tsitoras et al., 2000 [30]	19	24	NRTI + PI
V.H. Linares-Salas et al., 2001 [27]	65	–	NRTI + PI
E. Lainka et al., 2002 [31] (Working with children (1–17 years))	65	47	NRTI + PI
M.L. Green, 2002 [20] and Sherer, 2003 [32]	23	10	NRTI + PI
R. Palacios et al., 2003 [16]	11.9	33.3	NRTI + PI/NNRTI
L. Calza et al., 2004 [24]	38.2	25	NRTI + PI
N. Friis-Møller et al. (DAD Study), 2003 [15]	40	27	NRTI + PI
	32	23	NRTI + NNRTI
L. Valerio et al., 2005 [33]	49	17	NRTI + PI/r
P. Bonfanti et al. (“Simone” Study), 2006 [34]	52.2	45	NRTI + PI
M. Masiá-Canuto et al., 2006 [26]	54	44	NRTI + PI + NNRTI
C.J. Castro-Sansores et al., 2006 [35]	20	39	NRTI + PI

HAART: high activity anti-retroviral therapy, PI: proteases inhibitors, PI/r: proteases inhibitors/ritonavir, NNRTI: non nucleotide reverse transcriptase inhibitors, NRTI: nucleotide reverse transcriptase inhibitors.



### 2.3. Statistical methods

Statistical analysis was performed using the statistical analysis program SPSS V.15.0® (Statistical Package for Social Sciences). The level of significance for all hypothesis tests ( $p$ ) was 0.05. Absolute ( $n$ ) and relative (%) frequencies were computed for the categorical variables. Continuous variables were described using mean and standard deviation or 95% IC, or median and interquartile range (IQR), depending on whether their distribution was symmetrical or asymmetrical. The association between categorical variables was determined by a chi-square test. Every time the expected frequency in any cell of the contingency table was less than 5, the Fisher's exact test was used. To assess changes in the lipid profile due to treatment, we used the MacNemar test. The Mann–Whitney procedure was used to test hypotheses concerning continuous variables with skewed distribution. In order to evaluate the analytical values of parameters of lipid profile by HAART, multivariate models of generalized estimation equations (GEE) were applied. It was assumed a linear evolution in time of lipid profile.

### Results

The characterization of study and control populations is presented in Table 2. The control population corresponds to patients HIV diagnosed who had not yet started treatment. The study population corresponds also to patients with HIV subjected to HAART. The study population was diagnosed between 1998 and 2002 (therapeutic started between 2001 and 2002) and the control population between 2003 and 2004. The comparison between the study and control groups reveals no statistical differences between gender, age and viral load. The patients of the control and study populations had a similar way of life. Most had a dysfunctional way of living, poor diet, smoke, drink alcohol, low BMI, and not practice exercise. The year of diagnosis and CD4<sup>+</sup> are significantly different ( $p < 0.001$  and  $p < 0.001$ , respectively) (Table 2). As expected, the CD4<sup>+</sup> count was significantly higher in untreated patients (Table 2). Despite all the therapeutic possibilities, during our study, 21 (30%) patients had only the combination of NRTI + NNRTI and 38 patients used the scheme NRTI + PI. Just 12 (17%) patients experienced both regimes. Analyzing the lipid profile of the study population, we came to the conclusion that TC, HDLc, LDLc and TG values were significantly different ( $p < 0.05$ ) before and after therapy (Table 3). Most of the patients infected with HIV presented, before starting HAART, low levels of TC ( $n = 57$ , 83%), LDLc ( $n = 50$ , 88%) and TG ( $n = 33$ , 56%), and borderline values of HDLc ( $n = 28$ , 50%). Three years after treatment we found an increase in TC (28% of patients with borderline values and 18% with high values), LDLc (15% of patients with borderline values and 7% with high values), TG (20% of patients with borderline values and 41% with

**Table 3**

Lipid profile of the study population before and after 3 years of therapy.

	Pre-therapy <i>n</i> (%)	Post-therapy <i>n</i> (%)	<i>p</i>
Total cholesterol (mg/dL)			<0.001
<200	57 (83)	38 (54)	
200–239	9 (13)	20 (28)	
≥240	3 (4)	13 (18)	
HDLc (mg/dL)			<0.001
≥60	7 (13)	42 (59)	
40–59	28 (50)	12 (17)	
<40	21 (38)	17 (24)	
LDLc (mg/dL)			0.012
<130	50 (88)	55 (77)	
130–159	5 (9)	11 (15)	
≥160	2 (4)	5 (7)	
Triglycerides (mg/dL)			0.002
<150	33 (56)	28 (39)	
150–199	4 (7)	14 (20)	
≥200	22 (37)	29 (41)	

*n* (%): number (percentage).

high values), and also of HDLc values (59% of patients with normal values). According to the literature (Table 1), we found an increase of TC and TG values (Table 3). Unlike the majority of the publications the most relevant difference [5,8,30] was the increase of 47% (from 13% to 59%) of patients with high values of HDLc (≥60 mg/dL) (Table 3). Regarding the therapeutic scheme, it was found that patients treated with different classes of drugs presented a different lipid profile (Tables 4). Using the GEE model, we came to the conclusion that PI drugs cause a statistically significant change in TC, HDLc and TG values, while NNRTI drugs only presented a significant effect in respect to HDLc (Table 4). The drugs of the therapeutic class PI caused the greatest changes in CT values with an increase of 28.8 mg/dL per year of treatment. NNRTI drugs cause an increase of 11.6 mg/dL per year on HDLc. Previous medication causes a significant decrease of 7.5 mg/dL per year on HDLc values and a significant increase of 0.3 mg/dL per year on log TG. The duration of therapy had no significant influence on TC, HDLc or TG (Table 4).

### Discussion

The lipid profile of the study population before and after therapy has changed significantly resulting in an increase of all parameter values (Table 3), confirming the results of the first work published by Carr et al. [8] and many others subsequently [24,29,30,35]. The increase of 29% (increase of 14% for ≥240 mg/dL and 15% for 200–239 mg/dL) of TC and the increase of 17% of TG (increase of 13% for 150–199 mg/dL

**Table 2**

Characterization of study (before starting therapy) and control populations ( $n = 124$ ).

	Control ( $n = 53$ )	Study ( $n = 71$ )	<i>p</i>
Female, <i>n</i> (%)	18 (34)	14 (20)	0.073 <sup>1</sup>
Male, <i>n</i> (%)	35 (66)	57 (80)	
Age, med (IQR)	37 (33–45)	40 (34–45)	0.133 <sup>§</sup>
Race: Caucasian, <i>n</i> (%)	53 (100)	71 (100)	
CD4 <sup>+</sup> count (cell/μL), med (IQR)	521 (435–733)	333 (147–463)	<0.001
Viral load (RNA copies/mL) ( $\times 10^3$ ), med (IQR)	11.2 (3.6–25.6)	16.0 (1.2–45.0)	0.745 <sup>§</sup>
Year of diagnosis, med (IQR)	2003 (2003–2004)	1999 (1998–2002)	<0.001
Year of starting treatment,		2001 (29; 41)	
Year ( <i>n</i> ; %)		2002 (42; 59)	
Previous ARV (mono or bitherapy), <i>n</i> (%)		40 (56)	
HAART:		71 (100)	
2 NRTI + 1 NNRTI		21 (30)	
2 NRTI + 1 PI		38 (53)	
1 NRTI + 1 NNRTI + 1 PI		12 (17)	

*n* (%): number (percentage), med (IQR): median (Inter-quartile range), ARV: anti-retroviral, HAART: high activity anti-retroviral therapy, NRTI: nucleotide reverse transcriptase inhibitors, NNRTI: non nucleotide reverse transcriptase inhibitors, PI: proteases inhibitors, 1: test of independence chi-square, §: Mann–Whitney.

**Table 4**

Influence (increase or decrease provided per year) of therapeutic scheme, time on therapy, and previous medication to HAART on TC, HDLc, TG and LDLc in the study population, along the therapy (based on GEE model).

Variable	TC			HDLc			Log TG			LDLc		
	$\beta$	95% CI	<i>p</i>	$\beta$	95% CI	<i>p</i>	$\beta$	95% CI	<i>p</i>	$\beta$	95% CI	<i>p</i>
Therapeutic Scheme 1:			0.014			0.002			0.001			0.390
NRTI + NNRTI	6.9	−9.4; 23.3	0.404	11.6	4.5; 18.6	0.001	0.08	−0.1; 0.3	0.414	−8.5	−22.8; 5.8	0.243
NRTI + PI	28.8	8.9; 48.7	0.005	10.4	3.2; 17.6	0.005	0.4	0.2; 0.7	<0.001	0.3	−12.5; 13.0	0.969
Time on therapy	0.4	−2.9; 3.7	0.812	0.6	−0.2; 1.4	0.155	−0.02	−0.07; 0.03	0.507	4.1	1.1; 7.1	0.008
Previous medication <sup>2</sup> :												
Yes (NRTI)	3.9	−15.7; 23.6	0.695	−7.5	−14.2; −0.8	0.029	0.3	0.06; 0.6	0.017	−7.1	−21.8; 7.7	0.347
Constant	170.4	159.5; 181.2		43.7	39.8; 47.6		4.7	4.5; 4.8		94.2	81.9; 106.5	

$\beta$ : Increase or decrease provided per year (mg/dL); 95% CI: 95% confidence interval (mg/dL) of  $\beta$ ; dependent variable: TC, HDLc, TG and LDLc; independent variable: therapeutic group, time, and previous medication; 1: study population vs. control population; 2: population with previous medication vs. naive population (patients who were never submitted to a ARV before); PI: proteases inhibitors; NRTI: nucleotide reverse transcriptase inhibitors; NNRTI: non nucleotide reverse transcriptase inhibitors.

and 4% for  $\geq 200$  mg/dL) make the results of this study similar to those published by Tsidoras et al. in 2000 [30] and Castro-Sansores et al. in 2006 [35], conducted with PI drugs, and Palace-Rosario et al. in 2003 [16] with a PI and NNRTI. HDLc levels increased by 46% in  $\geq 60$  mg/dL (from 13% to 59% after 3 years of therapy) (Table 3), that is not according to the majority of published literature [29,30] especially as regard PI [5,8,27,31].

In this work, the therapeutic schemes with NNRTI drugs, widely used in these patients, contributed to a better metabolic profile because of the smaller increase in TC and TG levels and an important increase in HDLc compared to PI drugs (Table 4).

Palace-Rosario et al. in 2003 [16] conducted a study in Mexico and reported global increases in TC (33%), TG (11.9%) and approximately 50% in HDLc. Another singular outcome of this work is the variation of 17% in TG levels (increase of 13% for 150–199 mg/dL and 4% for  $\geq 200$  mg/dL) (Table 3) that is lower than most of the published results (Table 1). Data analysis (based on GEE model) led us to conclude that ARV therapy (mono and/or bitherapy) prior to the introduction of HAART had already caused high levels of TG, masking the real increase (Table 4).

Studies are being developed, including in Portugal, to better ascertain the mechanism that promotes the increase of HDLc, in situations where there is a concomitant decrease of TG. Differences in gene MDR-1 (Multi-Drug Resistant) coding for P-glycoprotein (a carrier of drugs) have been reported as responsible for plasma concentrations of drugs (particularly EFV) and immune recovery reflected by increases in CD4<sup>+</sup> [17,37]. Moreover, it is important to explain why the increases in HDLc are directly related to the decrease of viral RNA. Probably the recognized anti-oxidant effects of HDLc may inhibit viral replication. On the other hand, the similarities between the apolipoprotein A1, the main apoprotein of HDLc fraction, and p17 Gag-HIV protein are being considered in the reduction of viral replication through interactions in the membrane phospholipids and cellular cholesterol efflux to the cells that mediate the infection [17].

## Conclusions

The results indicate that patients with HAART, except for HDLc levels that are also increased ( $p < 0.001$ ), have a more atherogenic lipid profile by increased TC, LDLc and TG. The analysis of all the variables shows that HAART therapy has contributed in a statistically meaningful way for these increments. It is difficult to assess each individual drug action because the different classes of drugs in combination exert a synergistic action on the mechanisms that lead to changes in lipid profile. However, it was possible to prove that NRTI, when administrated alone (before starting HAART), had a strong responsibility in the increase of TG ( $p = 0.017$ ) in patients when they started the triple regimen.

NNRTI and PI are said to have the same effectiveness, however, since NNRTI is associated to a less atherogenic profile, as shown by this work, this drug class should be the first choice in the treatment

of HIV-1 infection. Above all, this study reinforced the belief that the use of anti-retroviral agents, either by their direct action or by modifications that they cause in the relationship virus/host, is crucial for the development of potentially atherogenic lipid changes and/or exacerbation of pre-existing conditions.

## Acknowledgments

Authors thank the GlaxoSmithkline Foundation for the financial support given to this study.

## References

- [1] Hoffmeister A, Rothenbacher D, Bode G, Persson K, März W, Nauck MA, et al. Current infection with *Helicobacter pylori*, but not seropositivity to *Chlamydia pneumoniae* or cytomegalovirus, is associated with an atherogenic, modified lipidic profile. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:427–32.
- [2] Beisel WR. Impact of infectious disease upon fat metabolism and immune functions. *Cancer Res* 1981;41:3797–8.
- [3] Feingold KR, Krauss RM, Pang M, Doerrler W, Jensen P, Grunfeld C. The hypertriglyceridemia of acquired immunodeficiency syndrome is associated with an increased prevalence of low density lipoprotein subclass pattern. *Br J Clin Endocrinol Metab* 1993;76:1423–7.
- [4] Grunfeld C, Pang M, Doerrler W, Shigenaga JK, Jensen P, Feingold KR. Lipids, lipoproteins, triglyceride clearance, and cytokines in human immunodeficiency virus infection and the acquired immunodeficiency syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1992;74:1045–52.
- [5] Treitinger A, Spada C, da Silva LM, Hermes EM, Amaral JA, Abdalla DS. Lipid and acute-phase protein alterations in HIV-1 infected patients in the early stages of infection: correlation with CD4<sup>+</sup> lymphocytes. *Braz J Infect Dis* 2001;5:192–9.
- [6] Hellerstein MK, Grunfeld C, Wu K, Christiansen M, Kaempfer S, Kletke C, et al. Increased de novo hepatic lipogenesis in human immunodeficiency virus infection. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;76:559–65.
- [7] Morse CG, Kovacs JA. Metabolic and skeletal complications of HIV Infection: the price of the success. *JAMA* 2006;296:844–54.
- [8] Carr A, Samaras K, Burton S, Law M, Freund J, Chisholm DJ, et al. A syndrome of peripheral lipodystrophy, hiperlipidaemia and insulin resistance in patients receiving HIV protease inhibitors. *AIDS* 1998;12:F51–8.
- [9] Currier JS, Havlir DV. Complications of HIV disease and antiretroviral therapy. *Top HIV Med* 2005;13:16–23.
- [10] Valente AM, Reis AF, Machado DM, Succi RC, Chacra AR. Metabolic changes of lipodystrophy syndrome HIV. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2005;49:871–81.
- [11] Domingo P, Matias-Guiu X, Pujol RM, Domingo JC, Arroyo JA, Sambeat MA, et al. Switching to nevirapine decreases insulin levels but does not improve subcutaneous adipocyte apoptosis in patients with highly active antiretroviral therapy-associated lipodystrophy. *J Infect Dis* 2001;184:1197–201.
- [12] Lichtenstein KA, Delaney KM, Armon C, Ward DJ, Moorman AC, Wood KC, et al. Incidence of and risk factors for lipodystrophy (abnormal fat loss) in ambulatory HIV-1-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2003;32:48–56.
- [13] Behrens G, Schmidt RE. Lipodystrophy syndrome. *AIDS net* Available: [http://hivmedicine.aidsportugal.com/html/07\\_Lipodys.html](http://hivmedicine.aidsportugal.com/html/07_Lipodys.html); 2006.
- [14] Bogner JR, Vielhauer V, Beckmann RA, Michl G, Wille L, Salzberger B, et al. Stavudine versus zidovudine and the development of lipodystrophy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2001;27:237–44.
- [15] Friis-Møller N, Weber R, Reiss P, Thiebaut R, Kirk O, d'Arminio Monforte A, et al. Cardiovascular disease risk factors in HIV patients — association with antiretroviral therapy. Results from the DAD study. *AIDS* 2003;17:1179–93.
- [16] Palacios R, Santos J, Ruiz J, González M, Valdivielso P, Márquez M, et al. Short-term lipid changes associated with highly active antiretroviral therapy in naïve HIV-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2003;34:249–51.

- [17] Alonso-Villaverde C, Segues T, Coll-Crespo B, Pérez-Bernalte R, Rabassa A, Gomila M, et al. Height-density lipoprotein concentrations relate to the clinical course of HIV viral load in patients undergoing antiretroviral therapy. *AIDS* 2003;17:1173–8.
- [18] Foulkes AS, Wohl DA, Frank I, Puleo E, Restine S, Wolfe ML, et al. Associations among race/ethnicity, apoC-III genotypes, and lipids in HIV-1-infected individuals on antiretroviral therapy. *PLoS Med* 2006;3(3):e52.
- [19] Xu A, Yin S, Wong L, Chan KW, Lam KS. Adiponectin ameliorates dyslipidaemia induced by the human immunodeficiency virus protease inhibitor ritonavir in mice. *Endocrinology* 2004;145:487–94.
- [20] Green ML. Evaluation and management of dyslipidaemia in patients with HIV infection. *J Gen Intern Med* 2002;17:797–810.
- [21] Thiébaud R, Dabis F, Malvy D, Jacqmin-Gadda H, Mercié P, Valentin VD. Serum triglycerides, HIV infection, and highly active antiretroviral therapy, aquitaine cohort, France, 1996 to 1998. Group d'épidémiologie clinique du sida en Aquitaine (GECSA). *J Acquir Immune Defic Syndr* 1998;23(1999):261–5.
- [22] Rimland D, Guest JL, Hernández-Ramos I, Del Rio C, Le NA, Brown WV. Antiretroviral therapy in HIV-positive women is associated with increased apolipoproteins and total cholesterol. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006;42:307–13.
- [23] Filippini P, Scolastico C, Battaglia M, Nacca C, Coppola N, Rossi G, et al. Lipodystrophy and serum lipid abnormalities in HIV-positive, sub-Saharan population on ART. *J Infect* 2006;53:e29–33.
- [24] Calza L, Manfredi R, Chiodo F. Dyslipidaemia associated with antiretroviral therapy in HIV-infected patients. *J Antimicrob Chemother* 2004;53:10–4.
- [25] Oriol M, Thiébaud R, Darioli R, Tarr PE. Treatment of dyslipidaemia in HIV-infected persons. *Expert Opin Pharmacother* 2005;6:1619–45.
- [26] Masiá-Canuto M, Bernal-Morell E, Gutiérrez-Rodero F. Alteraciones lipídicas y riesgo cardiovascular asociado a la terapia antirretroviral. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2006;24:637–48.
- [27] Linares-Salas VH, Morales JJ, Serrano S, Dorantes-Alvarez LM, Avila-Figueroa C. Hiperlipidemia y otras alteraciones metabólicas asociadas al uso de inhibidores de proteasa del HIV. Patogénesis y perspectivas terapéuticas. *Bol Med Hosp Infant Mex* 2001;58:708–20.
- [28] Domingo P, Pérez A, Torres OH, Montiel JA, Vázquez G. Correspondence. *Lancet* 1999;354:868.
- [29] Berthold HK, Parhofer KG, Ritter MM, Addo M, Wasmuth JC, Schliefer K, et al. Influence of protease inhibitor therapy on lipoprotein metabolism. *J Intern Med* 1999;246:567–75.
- [30] Tsitoras S, Mantzoros C, Hammer S, Samore M. Effects of protease inhibitors on hyperglycemia, hyperlipidaemia, and lipodystrophy: a 5-year cohort study. *Arch Intern Med* 2000;160:2050–6.
- [31] Laínka E, Oezbek S, Falck M, Ndagijimana J, Niehues T. Marked dyslipidaemia in human immunodeficiency virus-infected children on protease inhibitor-containing antiretroviral therapy. *Pediatrics* 2002;110:e56.
- [32] Sherer R. HIV, HAART, and hyperlipidaemia: balancing the effects. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2003;34:S123–9.
- [33] Valerio L, Fontas E, Pradier C, Lavrut T, Garraffo R, Dunais B, et al. Lopinavir/ritonavir combination and total/HDL cholesterol ratio. *J Infect* 2005;50:229–35.
- [34] Bonfanti P, Ricci E, de Socio G, Zeme D, Carradori S, Penco G, et al. Metabolic syndrome: a real threat for HIV-positive patients? Results from the SIMONE study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006;42:128–30.
- [35] Castro-Sansores CJ, Santos-Rivero A, Lara-Perera D, González-Martínez P, Alonso-Salomón G, Góngora-Biachi RA. Hyperlipidaemia and glucose intolerance in a group of patients infected with HIV that reciben antiretroviral therapy overactive. *Salud Publica Mex* 2006;48:193–9.
- [36] Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001;285:2486–97.
- [37] Pereira SA, Branco T, Côrte-Real RM, Germano I, Lampreia F, Caixas U, et al. Long-term and concentration-dependent beneficial effect of efavirenz on HDL-cholesterol in HIV-infected patients. *Br J Clin Pharmacol* 2006;61:601–4.





Exma<sup>a</sup> Senhora  
Dr<sup>a</sup> Mary Conception Fecha Duro

mcduro@gmail.com

Sua referência	Data	Nossa referência	Data	Processo
		163/CES	18.06.09	

ASSUNTO: Pedido de autorização de realização do projecto de investigação "Síndrome Metabólico e Infecção por VIH: Que Relação?", no âmbito da tese de doutoramento da Mestre em VIH/SIDA, Mary Conception Fecha Duro, da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto.

Na sequência da reunião da Comissão de Ética do Hospital de Joaquim Urbano de 3 de Junho de 2009, relativamente ao pedido de parecer sobre o projecto de investigação "Síndrome Metabólico e Infecção por VIH: Que Relação?", no âmbito da tese de doutoramento da Mestre em VIH/SIDA, Mary Conception Fecha Duro, da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, após terem sido analisadas as alterações solicitadas, foi emitido parecer favorável.

Com os melhores cumprimentos,

Porto e Hospital Joaquim Urbano, 18 de Junho de 2009

A Comissão de Ética

Dr.ª Elizabete Maria das Neves Borges

*sida: prevenir a infecção, despertar consciências e mobilizar recursos*

# DECLARAÇÃO DE CONSENTIMENTO

**Considerando a "Declaração de Helsínquia" da Associação Médica Mundial  
(Helsínquia 1964; Tóquio 1975; Veneza 1983; Hong Kong 1989; Somerset West 1996 e Edimburgo 2000)**

## **Designação do Estudo (em português):**

" Síndrome metabólica e infecção por VIH  
Que relação?".

**Eu, abaixo-assinado, (nome completo do doente)** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_, compreendi a explicação que me foi fornecida acerca do meu caso clínico e da investigação que se tenciona realizar, bem como do estudo em que serei incluído. Foi-me dada oportunidade de fazer as perguntas que julguei necessárias, e de todas obtive resposta satisfatória.

Tomei conhecimento de que, de acordo com as recomendações da Declaração de Helsínquia, a informação ou explicação que me foi prestada versou os objectivos, os métodos, os benefícios previstos, os riscos potenciais e o eventual desconforto. Além disso, foi-me afirmado que tenho o direito de recusar a todo o tempo a minha participação no estudo, sem que isso possa ter como efeito qualquer prejuízo na assistência que me é prestada.

Por isso, consinto que me seja aplicado o método, o tratamento ou o inquérito proposto pelo investigador.

Data: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / 200\_\_

**Assinatura do doente:** \_\_\_\_\_

O Investigador responsável: *Mary conception Fecha Duro*

**Nome:**

**Assinatura:**